



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)

Présentée et soutenue par :

Marjorie BIFFI

le mardi 10 octobre 2017

Titre :

Influence des facteurs environnementaux et des interactions
biotiques sur la sélection de l'habitat et le régime alimentaire du
desman des Pyrénées, *Galemys pyrenaicus*

École doctorale et discipline ou spécialité :

ED SDU2E : Écologie fonctionnelle

Unité de recherche :

Laboratoire Écologie Fonctionnelle et Environnement (EcoLab), UMR 5245, CNRS - UPS - INPT

Directeur/trice(s) de Thèse :

Laëtitia BUISSON
Pascal LAFFAILLE

Maître de conférences, Université Paul Sabatier, Toulouse
Professeur, Toulouse INP-ENSAT, Toulouse

Directrice de thèse
Directeur de thèse

Jury :

Stéphane AULAGNIER
Christiane DENYS
Alain BUTET
Philippe USSEGLIO-POLATERA

Professeur, CEFS-INRA-Université de Toulouse, Castanet - Tolosan
Professeur, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris
Chargé de recherche, CNRS, Rennes
Professeur, Université de Lorraine, Metz

Président du jury
Rapporteur
Rapporteur
Examineur

*« Nous réalisons que ce que nous accomplissons n'est qu'une goutte dans l'océan,
mais si cette goutte n'existait pas, elle manquerait »*

Mère Thérèse

REMERCIEMENTS

J'ai commencé cette page de remerciements au tout premier jour de ma thèse et n'ai cessé de la remplir depuis presque trois ans maintenant pour être sûre de n'oublier personne le jour J de mon rendu. Si je la laissais en l'état, il y aurait tant de pages que ce ne serait pas sérieux... Il faut dire que la « synthèse » n'a jamais été mon point fort et s'il y a bien un seul domaine où je ne souhaite pas en faire, c'est bien celui de dire « merci ». Je vais pourtant devoir me faire violence pour garder ces quelques pages les plus « digestes » possibles sans pour autant oublier ne serait-ce qu'un seul des protagonistes qui ont tant enrichi ces années! Alors si vous le voulez bien, nous allons commencer par le tout début ...

Cette histoire commence fin 2012 par deux entretiens téléphoniques avec Anaïs Charbonnel, alors en thèse sur le desman des Pyrénées, et deux de ses directeurs, Pascal Laffaille et Laëtitia Buisson. Qui aurait pensé à l'époque que nous ferions tant de chemin tous ensemble ! Merci à tous les trois de m'avoir choisie et donné ma chance pour ce stage de M2. Un grand merci à mes deux directeurs de thèse aujourd'hui, de m'avoir gardée en CDD puis en thèse, et fait confiance tout au long de cette aventure desman qui nous tient en haleine depuis février 2013. Laëtitia, Pascal, merci d'avoir toujours voulu obtenir le meilleur de moi-même, d'avoir trouvé des solutions quand je n'en voyais aucune et finalement d'avoir toujours été disponibles et réactifs lorsque j'en avais besoin. Le résultat est là, si j'écris ces mots, c'est que nous avons réussi !

L'obtention de ma bourse de thèse n'aura pas été une mince affaire avec tous ces rebondissements. Alors merci à José-Miguel Sanchez-Pérez d'avoir retiré son sujet de thèse qui nous a permis de monter d'un cran dans le processus de sélection du labo. Merci à Franck Gilbert, maintenant directeur d'EcoLab, de m'avoir donné ce petit bocal de terre du Machu-Pichu pour me porter chance, ça a fonctionné ! Je suis vraiment ravie de soutenir sous ton mandat. Merci au Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche de 2013 d'avoir doté l'université de Toulouse d'une bourse supplémentaire tombée du ciel et merci à Madame Cathala, secrétaire de l'école doctorale SDU2E, d'en avoir été la messagère ! Merci pour votre gentillesse et votre efficacité depuis le premier jour!

Je tiens à remercier chaleureusement tous les membres de mon comité de thèse en plus de mes directeurs, qui ont été là tout au long de ces années, notamment lorsqu'il a fallu réorienter mon sujet, et qui m'ont aiguillée, donné des idées et apporté toutes leurs expertises. Mille mercis à

Mélanie Némot et Frédéric Blanc du CEN-MP qui n'ont pas cessé de me soutenir, à Vincent Lacaze de l'ANA dont l'expérience de terrain en Ariège, les points météo et les nombreux conseils m'ont été indispensables, à Julien Steinmetz de l'ONCFS, à Stéphane Aulagnier aux deux casquettes INRA-SFEPM et je rajoute en plus Bruno Le Roux de la FAC et Pascal Fournier du GREGE. Vous êtes les grands manitous des mammifères semi-aquatiques des Pyrénées, et sans vous, je suis persuadée que tout ce travail aurait été difficilement réalisable !

Je souhaiterais également remercier les très nombreuses personnes qui m'ont aidée dans l'acquisition de mes données. Merci d'abord à mes deux stagiaires Camille Dupuyds et Marion Alvarez qui m'ont accompagnée l'été 2015, à la recherche du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique. Merci également aux personnes qui sont venues ponctuellement me permettre de boucler mes prospections : Laëticia Buisson, Christine Lauzeral, Fanny Colas, Jérémy Jabiol, Frédéric Julien, Emile Poncet, Sylvain Lamothe. Merci à Séverine Jean, Virginie Payré-Suc, Michèle Tackx, Evelyne Buffan-Dubau et Sylvain Lamothe de m'avoir prêté du matériel pour mes prélèvements d'eau et d'invertébrés. Merci au CEN-MP et à l'Europe qui finance le projet LIFE+ en faveur du desman des Pyrénées, de m'avoir prêté du matériel et des hommes pour terminer mon terrain. Merci à Frédéric Julien et Didier Lambrigot d'avoir réalisé les analyses de chimie de l'eau pour mes 65 stations. Merci à Maritxu Guirresse et Emilie Cambou d'avoir gentiment accepté de me fournir des données pédologiques pour ma zone d'étude. Je vouerai également une reconnaissance éternelle à Sylvain Lamothe qui a trié et identifié la quasi-totalité de mes bidons contenant de très nombreux macroinvertébrés benthiques que j'ai récoltés sur le terrain! Sans toi Sylvain, je ne sais pas où j'en serais, mille mercis les plus sincères ! Un grand merci aussi à Jérémy Jabiol pour le tri ponctuel et la formation « Surber ». Merci également à Arthur Compin qui a bien voulu répondre à mes questions sur les invertébrés terrestres du coin. Merci à tous les partenaires sur la chaîne des Pyrénées qui m'ont fourni des données sur les prédateurs : l'ANA, le CEN-MP, le CEN-A, Cistude Nature, la FAC, la FRC-MP, la FRNC, le GREGE, le GOR, l'Union Meridionalis, NMP, l'ONCFS, la SFEPM par l'intermédiaire de Stéphane Aulagnier et Françoise Poitevin. Merci aussi à Daniel Marc, directeur du CEN-MP d'avoir financé les analyses génétiques de fèces de carnivores pour mon chapitre 7 et merci à François Gillet de les avoir réalisées. Merci à l'Ecole des Docteurs et à l'Université Fédérale Toulouse Midi-Pyrénées d'avoir financé ma mission à Liège en Belgique par le biais d'une bourse de mobilité internationale. Vous m'avez permis de réaliser l'ensemble des analyses génétiques nécessaires pour mener à bien mon travail de thèse. Merci à Johan Michaux et à toute son équipe sur place, de m'avoir accueillie comme une des leurs et de m'avoir formée à ces techniques de génétique que je ne connaissais pas du tout à l'époque et d'être restés disponibles après mon départ pour mes nombreuses interrogations. Merci particulièrement à François Gillet et Adrien André pour leurs formations et

conseils sur les manips. Un remerciement spécial à Adrien pour le traitement bio-informatique de mes données, qui a fait le ménage dans mes séquences d'ADN après la phase d'amplification. Merci Laurent Gohy de m'avoir accueillie dans ta salle de manip et merci à Sophie V. et Noémie Y. d'avoir partagé ces moments de vie « belges » avec moi 😊

Ces trois années de thèse auront été l'occasion de rencontrer un grand nombre de belles personnes que je souhaiterais également citer ici. Je souhaiterais d'abord remercier chaleureusement mes collègues enseignants et les responsables de modules qui m'ont permis de donner des cours pendant 3 ans. Un grand merci notamment à Sylvain Mastroiello, Magali Bedoura, Luc Legal, Erick Campan, Lisa Jacquin et Jacques Chanteloup pour tous ces bons moments passés en TP de Biologie Animale et à mes étudiants d'avoir été si mignons. Un remerciement spécial pour Sylvain qui m'a fait confiance et encouragée et qui s'est même quelque peu sacrifié pour que je puisse me consacrer à ma rédaction en cette fin d'année! Je remercie les collègues d'EcoLab et les personnes qui nous facilitent la vie au laboratoire : Cécile, Catherine et Cyril pour la gestion et l'organisation des missions mais aussi et surtout Régine, une véritable deuxième maman à l'oreille attentive qui a toujours su trouver les mots quand il le fallait. Merci pour ta présence, ton aide et ta gentillesse ! Merci aux copains thésards, post-doc et ingé du labo qui font notamment de ces murs un endroit chaleureux : Maïwen, Doriane, Cécile, Emilie, Hash, Thibaut, Quentin, Jérémy, Julien et les anciens.

Je voudrais également remercier mes proches, parents, familles et amis pour la patience, la bienveillance et le soutien sans faille dont ils ont fait preuve pendant ces trois années. Vous êtes mes piliers. Merci d'avoir compris et de m'avoir portée jusqu'au bout. Un remerciement spécial à ma maman pour son aide (i.e. tu te souviendras de mes 6000 copiers-collers de Pâques 2016 hein ?), son oreille attentive qui me fait toujours prendre du recul et tellement de choses encore. Merci à mes parents d'être toujours fiers de moi quoi qu'il arrive. J'ai aussi une pensée pour Anaïs, Sophie, Fanny et Maïwen qui m'ont montré la voie, conseillée et épaulée et dont l'amitié m'est si précieuse. Maïwen et Doriane, vous avez été deux soutiens incroyables, notamment ces derniers mois, et vos pensées positives et encouragements n'auront cessé de me faire avancer. Je n'ose imaginer ce qu'auraient été tous ces moments sans vous ! Je vous dois une reconnaissance éternelle ! Doriane compte sur moi, je serai là quand ce sera ton tour ! Un petit clin d'œil aussi aux amis plongeurs et aux « 3 fantastiques » niçoises qui sont toujours là après toutes ces années. Enfin merci à William pour lequel aucun mot ne saurait exprimer à quel point je suis reconnaissante.

Enfin, parce que toute belle histoire arrive un jour à sa fin, je souhaiterais remercier chaleureusement mes rapporteurs Christiane Denys et Alain Butet ainsi que les autres membres de mon jury, Philippe Usseglio-Polatera et Stéphane Aulagnier, qui ont gentiment accepté d'évaluer ce travail. Le jour où je me tiendrai devant vous signera la fin de cette belle histoire mais aussi le début d'une toute nouvelle aventure qui m'attire et me fait peur à la fois, mais qui sera j'en suis sûre à la hauteur de tout ce que j'ai vécu jusqu'à présent...

A vous tous qui avez marqué ces années de ma vie et mon aventure « desman » de par votre aide, votre présence ou simplement votre bienveillance, je vous remercie infiniment et vous dédis ce
manuscrit...

Partenaires techniques et financiers



Certaines analyses génétiques ont été réalisées dans le cadre du programme LIFE+ Desman (LIFE13NAT/FR/000092), programme de conservation du Desman des Pyrénées et de ses habitats (2014-2020) coordonné par le Conservatoire d'Espaces Naturels de Midi-Pyrénées

en partenariat avec :



et avec le soutien financier de :



TABLE DES MATIERES

CHAPITRE 1. INTRODUCTION GENERALE	17
1.1. Erosion de la biodiversité : constat, causes et stratégies de conservation	18
1.1.1. Un important déclin de la biodiversité à l'échelle planétaire	18
1.1.2. La vulnérabilité des écosystèmes aquatiques continentaux	19
1.1.3. Les causes du déclin de la biodiversité dans les écosystèmes aquatiques continentaux.....	20
1.2. Les stratégies de conservation de la biodiversité aquatique.....	22
1.2.1. Pourquoi faut-il agir ?	22
1.2.2. Quelles méthodes de gestion pour les milieux aquatiques ?	24
1.2.3. Comment définir les priorités de gestion pour la conservation des espèces ?.....	25
1.3. Le desman des Pyrénées	27
1.3.1. Description générale de l'espèce.....	27
1.3.2. Régression des populations, menaces et outils de conservation	30
1.3.3. Etat des connaissances sur les exigences écologiques du desman des Pyrénées	32
1.3.4. Des connaissances à combler sur... ..	34
1.3.4.1. ... les habitats préférentiels du desman des Pyrénées.....	34
1.3.4.2. ... les interactions avec d'autres espèces.....	35
1.4. Objectifs et structure du manuscrit.....	39
CHAPITRE 2. MATÉRIELS ET MÉTHODES	43
2.1. Zone d'étude.....	44
2.1.1. Les Pyrénées françaises.....	44
2.1.2. Le département de l'Ariège	46

2.2.	Collecte des indices de présence du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique.....	47
2.2.1.	Pourquoi utiliser des indices indirects de présence ?	47
2.2.2.	Protocole de prospection.....	48
2.2.3.	Caractéristiques des différents échantillonnages.....	49
2.2.3.1.	Echelle des Pyrénées.....	49
2.2.3.1.1.	Données historiques 1985-1990	49
2.2.3.1.2.	Données actuelles 2011-2013	50
2.2.3.2.	Echelle du département de l'Ariège – Données 2015	51
2.2.3.3.	Bilan des trois échantillonnages.....	52
2.3.	Analyses génétiques des fèces collectées.....	53
2.3.1.	Pourquoi une validation génétique est-elle nécessaire ?.....	53
2.3.2.	Le gène mitochondrial COI	54
2.3.3.	Protocole de laboratoire et traitement bio-informatique.....	54
2.3.3.1.	Extraction de l'ADN contenu dans les fèces	54
2.3.3.2.	Amplification par PCR du gène COI	54
2.3.3.3.	Séquençage du gène COI	56
2.3.3.4.	Comparaison des séquences d'ADN avec les bases de données de référence	57
2.3.3.5.	Identification de l'auteur des fèces.....	58
2.3.4.	Bilan des analyses génétiques pour les deux échelles spatiales d'étude	58
2.3.4.1.	Echelle des Pyrénées.....	58
2.3.4.2.	Echelle du département de l'Ariège	58
2.4.	Echantillonnage des macroinvertébrés aquatiques	60
2.4.1.	Sites échantillonnés et période d'échantillonnage.....	60
2.4.2.	Protocole d'échantillonnage	61
2.4.2.1.	Description des habitats	62
2.4.2.2.	Prélèvement des macroinvertébrés aquatiques	62

2.4.2.3.	Identification des macroinvertébrés aquatiques	62
2.5.	Données sur les prédateurs potentiels du desman des Pyrénées	63
2.5.1.	Evolution récente de l'aire de répartition de la loutre d'Europe et du vison d'Amérique	63
2.5.2.	Régime alimentaire de la loutre d'Europe et du vison d'Amérique.....	63
2.6.	Caractéristiques environnementales des cours d'eau échantillonnés.....	64
2.6.1.	Variables environnementales à l'échelle du tronçon de cours d'eau et de la plaine alluviale.....	64
2.6.1.1.	Climat.....	64
2.6.1.2.	Occupation du sol	65
2.6.1.3.	Hydrologie	65
2.6.1.4.	Hydrographie.....	65
2.6.1.5.	Pédologie	66
2.6.1.6.	Perturbations humaines	66
2.6.2.	Variables environnementales à l'échelle locale du tronçon de cours d'eau prospecté	67
2.6.2.1.	Lit mineur.....	67
2.6.2.2.	Berges	68
2.6.2.3.	Lit majeur.....	68
2.6.2.4.	Qualité chimique de l'eau.....	68
CHAPITRE 3. INFLUENCE DE FACTEURS ABIOTIQUES ET BIOTIQUES SUR LA DISTRIBUTION LOCALE DU DESMAN DES PYRÉNÉES		69
3.1.	Résumé du chapitre	70
3.2.	Article 1	75
CHAPITRE 4. UTILISATION DE NOUVELLES APPROCHES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE POUR AMÉLIORER LES CONNAISSANCES SUR LE RÉGIME ALIMENTAIRE DU DESMAN DES PYRÉNÉES.		97
4.1.	Résumé du chapitre	98
4.2.	Article 2	103

CHAPITRE 5. RECOUVREMENT TROPHIQUE ENTRE LE DESMAN DES PYRÉNÉES ET LA CROSSE AQUATIQUE : COMPARAISON DES RÉGIMES ALIMENTAIRES ET DE LA SÉLECTIVITÉ EN PROIES	121
5.1. Résumé du chapitre	122
5.2. Article 3	127
CHAPITRE 6. COMPARAISON DES MICRO-HABITATS DE CHASSE DU DESMAN DES PYRÉNÉES ET DE LA CROSSE AQUATIQUE À L'AIDE DES TRAITS BIOLOGIQUES ET ÉCOLOGIQUES DE LEURS PROIES.....	151
6.1. Résumé du chapitre	152
6.2. Article 4	157
CHAPITRE 7. ETUDE DES INTERACTIONS ENTRE LE DESMAN DES PYRÉNÉES ET DEUX CARNIVORES SEMI-AQUATIQUES, LA LOUTRE D'EUROPE ET LE VISON D'AMÉRIQUE	189
7.1. Introduction.....	190
7.1.1. Recolonisation de la loutre d'Europe	190
7.1.2. Invasion du vison d'Amérique	193
7.1.3. Objectifs	196
7.2. Evolution récente de la répartition du vison d'Amérique et du desman des Pyrénées dans les Pyrénées françaises.....	196
7.2.1. Matériels et méthodes	197
7.2.1.1. Données de distribution du desman des Pyrénées et du vison d'Amérique	197
7.2.1.2. Données environnementales	198
7.2.1.3. Approche statistique de modélisation	199
7.2.2. Résultats	200
7.2.3. Discussion.....	204
7.3. De nouvelles évidences de la prédation du desman des Pyrénées par la loutre d'Europe et le vison d'Amérique	206

7.3.1.	Matériels et méthodes	206
7.3.2.	Résultats	207
7.3.3.	Discussion.....	210
7.4.	Conclusion	212
CHAPITRE 8. DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES.....		215
8.1.	Les nouveaux facteurs abiotiques à prendre en compte pour la gestion du desman des Pyrénées	216
8.1.1.	Les pressions anthropiques exercées sur le lit mineur	216
8.1.2.	La qualité chimique de l'eau	221
8.2.	Un régime alimentaire plutôt généraliste mais avec une préférence pour certains habitats de chasse	223
8.3.	Interactions trophiques et spatiales du desman des Pyrénées avec un compétiteur potentiel, la crossope aquatique.....	227
8.4.	La présence de deux prédateurs semi-aquatiques peut-elle expliquer le déclin du desman des Pyrénées ?	231
8.4.1.	La loutre d'Europe, un prédateur du desman des Pyrénées en France	231
8.4.2.	Le vison d'Amérique, à l'origine de la contraction de l'aire de distribution du desman des Pyrénées ?	235
8.4.3.	Interactions entre la loutre d'Europe et le vison d'Amérique : quelles conséquences potentielles pour le desman des Pyrénées ?	238
8.5.	La nécessité de s'intéresser à d'autres facteurs et notamment à la biologie du desman des Pyrénées.....	239
ANNEXE A1.....		244
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		245

CHAPITRE 1.

INTRODUCTION GENERALE

1.1. Erosion de la biodiversité : constat, causes et stratégies de conservation

1.1.1. Un important déclin de la biodiversité à l'échelle planétaire

Depuis que la vie est apparue, les extinctions d'espèces font partie de l'histoire de la Terre. Tout au long de l'évolution, des espèces ont disparu et les temps géologiques ont été ponctués de cinq grandes vagues d'extinction. Ces crises majeures de biodiversité ont vu disparaître plus de 75 % de la faune et de la flore mondiale (Barnosky *et al.*, 2011) et ont profondément modifié les communautés et les écosystèmes de la planète. Les phases d'expansion qui ont suivi, issues des dynamiques d'évolution sur plusieurs millions d'années, ont permis l'émergence de nouvelles formes de vie pour façonner la diversité que nous connaissons aujourd'hui. Mais depuis environ deux siècles, la Terre subit une nouvelle phase d'extinction massive. Si les cinq grandes vagues d'extinctions passées sont survenues à l'échelle des temps géologiques, la perte actuelle de biodiversité ne cesse de s'accélérer sur une courte échelle de temps. Même si le nombre d'espèces disparues n'atteint pas encore celui des extinctions passées (Barnosky *et al.*, 2011), la communauté scientifique s'accorde déjà à dire que nous vivons actuellement la sixième crise d'extinction de biodiversité (Ceballos *et al.*, 2015 ; McCallum, 2015). Cette perte de biodiversité se mesure à trois niveaux imbriqués : d'abord, (i) des déclin local en abondance sont observés au sein d'une même population qui peuvent conduire à (ii) l'extinction de certaines populations d'une espèce qui engendre une réduction de son aire de répartition et à terme, sans inversion de cette tendance, à (iii) l'extinction globale de l'espèce (Young *et al.*, 2016). Les différences majeures avec les précédentes crises de biodiversité se traduisent surtout (i) par la vitesse sans précédent du déclin actuel des espèces, qui serait de 100 à 1000 fois supérieure à celle du passé (Pimm *et al.*, 2014 ; Ceballos *et al.*, 2015) avec des projections alarmantes pour le futur (Figure 1-1 ; Pereira *et al.*, 2010 ; Tilman *et al.*, 2017) et (ii) par son origine. En effet, si les précédentes crises étaient attribuées à des aléas environnementaux (e.g. glaciation, volcanisme, collision avec un astéroïde), cette crise contemporaine de la biodiversité semble essentiellement liée à l'expansion des populations et des activités humaines, et de leurs multiples impacts sur l'environnement.

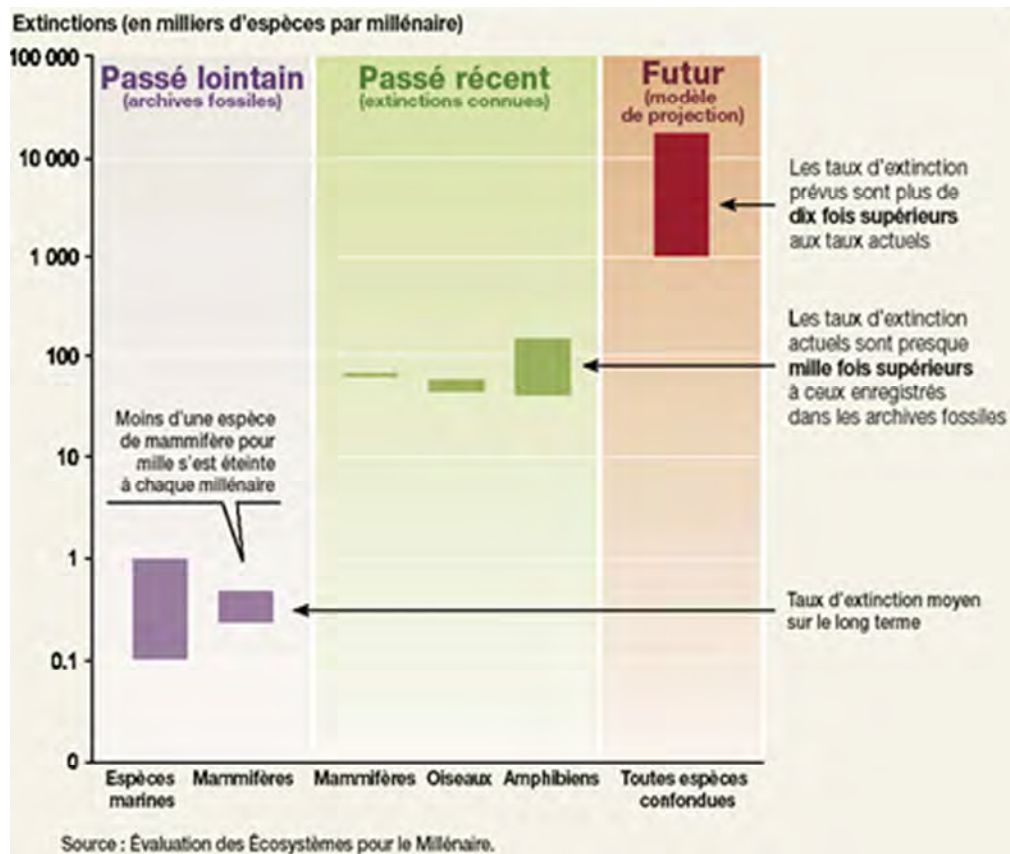


Figure 1-1 : Taux d'extinction des espèces déterminés par l'étude d'archives fossiles (i.e. temps géologiques), des extinctions contemporaines connues (i.e. passé récents) et des projections modélisées pour le futur (d'après Millennium Ecosystem Assessment, 2005).

1.1.2. La vulnérabilité des écosystèmes aquatiques continentaux

Bien qu'ils ne représentent que 0.8 % en surface et 0.01 % en quantité d'eau sur la planète, les écosystèmes aquatiques continentaux accueillent environ 6 % des espèces connues, avec un fort taux d'endémisme, dont près de 30 % des vertébrés (Dudgeon *et al.*, 2006 ; Geist, 2011). Les pressions anthropiques y sont particulièrement fortes du fait de la dépendance des activités humaines à la ressource en eau douce (e.g. eau potable, production d'énergie, agriculture, industrie, loisirs) qui engendre une utilisation intense de cette ressource et une concentration importante des populations humaines autour de ces milieux (Laffaille & Brosse, 2011).

Ainsi, par rapport aux écosystèmes terrestres et marins, les écosystèmes d'eau douce sont les plus impactés (Collen *et al.*, 2014 ; Young *et al.*, 2016). Par exemple, le déclin moyen des espèces de vertébrés d'eau douce y est estimé à 76 % contre 39 % pour les vertébrés terrestres et marins (Ricciardi & Rasmussen, 1999 ; Millennium Ecosystem Assessment, 2005 ; Strayer & Dudgeon, 2010 ; Figure 1-2). Une des raisons de cette sensibilité marquée est la structure arborescente et interconnectée des rivières qui restreint la dispersion des espèces aquatiques entre les bassins

versants et qui permet aux perturbations ayant lieu en amont d'un bassin versant de se faire ressentir, voire de s'accumuler, jusqu'à plusieurs centaines de kilomètres en aval (Dudgeon *et al.*, 2006).

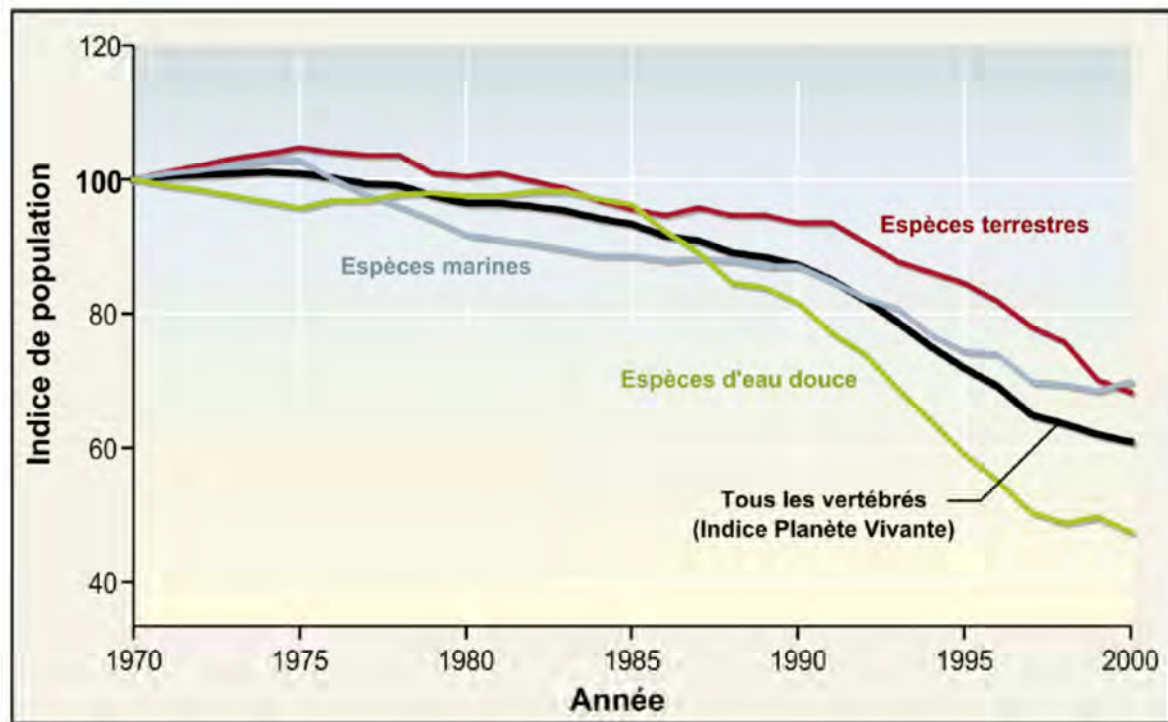


Figure 1-2 : « Indice planète vivante » pour la période 1970-2000. Cet indicateur de l'état de la biodiversité mesure les tendances des populations de vertébrés terrestres (rouge), marins (gris) et d'eau douce (vert) à l'échelle mondiale en comparaison à la valeur de référence de 1970 (i.e. indice de 100). La courbe noire donne une estimation moyenne pour tous les vertébrés (d'après Millennium Ecosystem Assessment, 2005).

1.1.3. Les causes du déclin de la biodiversité dans les écosystèmes aquatiques continentaux

Cinq causes principales sont avancées par les scientifiques pour expliquer le déclin actuel de la biodiversité aquatique dans les milieux continentaux (e.g. Malmqvist & Rundle, 2002 ; Collares-Pereira & Cowx, 2004 ; Dudgeon *et al.*, 2006 ; Abell *et al.*, 2007 ; Stendera *et al.*, 2012 ; Gangloff *et al.*, 2016 ; Young *et al.*, 2016) :

- (i) **la perte et la dégradation des habitats naturels** qui résultent par exemple de l'expansion des terres urbanisées (e.g. ville, routes), industrielles (e.g. hydroélectricité, usines de papier) ou agricoles (e.g. culture, exploitations forestières, aquaculture) au détriment des zones naturelles. Les milieux aquatiques continentaux sont notamment particulièrement touchés par le développement d'ouvrages hydrauliques pour produire de l'électricité ou

de l'eau potable ou pour l'irrigation des terres agricoles (Vörösmarty *et al.*, 2010). Ces ouvrages modifient les habitats aquatiques et les régimes hydrauliques des cours d'eau en amont et en aval. Toutes ces perturbations peuvent conduire à la fragmentation des habitats et à la perte de la continuité dans les gradients naturels qui représentent une menace supplémentaire pour les espèces aquatiques, dont les possibilités de dispersion sont encore plus réduites. Les populations isolées avec de faibles effectifs présentent en effet un plus grand risque d'extinction que les autres (Gaston, 1998). Par conséquent, les concepts théoriques qui décrivent et expliquent les processus écologiques qui se déroulent respectivement dans les dimensions longitudinales (e.g. River Continuum Concept ; Vannote *et al.*, 1980) et latérales des cours d'eau (e.g. Flood Pulse Concept ; Junk *et al.*, 1989) ont dû être adaptés pour intégrer l'effet de ces ouvrages. Le Serial Discontinuity Concept (Ward & Stanford, 1983, 1995 ; Stanford & Ward, 2001) propose ainsi de considérer les obstacles comme des éléments qui brisent les gradients environnementaux naturels ;

- (ii) **la surexploitation des ressources**, telles que la surpêche, qui diminue par exemple l'abondance et cause un rajeunissement des populations de poissons, alors dominées par des individus de petite taille, plus sensibles à la fragmentation des milieux (Allan *et al.*, 2005). L'utilisation intensive de la ressource en eau (i.e. eau potable, agriculture, industrie, sports d'hiver) est également une source importante de menaces pour la biodiversité aquatique (e.g. Arroita *et al.*, 2017 ; Benejam *et al.*, 2010a) ;
- (iii) **la pollution** qui peut être issue des produits phytosanitaires utilisés pour l'agriculture, des rejets de produits chimiques ou d'hydrocarbures de l'industrie ou encore des eaux usées qui peuvent encore contenir des molécules qui ne sont pas retenues par les stations d'épuration. La position particulière des cours d'eau au cœur des paysages les rend sensibles à ces pollutions par rejets directs ou par ruissellement de surface qui s'accumulent de l'amont vers l'aval. Les organismes aquatiques y sont particulièrement vulnérables puisqu'ils évoluent en continu dans ces milieux contaminés (Young *et al.*, 2016) ;
- (iv) les espèces non-natives introduites dans de nouveaux milieux de façon fortuite ou volontaire (e.g. poissons pour la pêche sportive), qualifiées **d'espèces exotiques envahissantes** ou également **d'espèces invasives**. Ces espèces invasives peuvent se révéler compétitrices ou prédatrices d'espèces natives mais également de potentiels vecteurs de nouveaux pathogènes, avec des conséquences potentiellement néfastes sur les populations animales et végétales (Cucherousset & Olden, 2011). Les espèces invasives ont en effet participé à l'extinction de 54 % des espèces aquatiques et

terrestres répertoriées dans la liste rouge de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) et sont reconnues comme seules responsables dans 20 % des cas (Clavero & García-Berthou, 2005) ;

- (v) les **changements climatiques** et notamment l'augmentation des températures qui exacerbe les précédentes menaces sur la biodiversité (Heino *et al.*, 2009) et engendre des modifications des aires de répartition (i.e. réduction des zones favorables ; e.g. Comte *et al.*, 2013), de la phénologie (e.g. modification des périodes de reproduction ; e.g. Winder & Schindler, 2004) et de la physiologie (e.g. diminution de la taille des individus ; e.g. Daufresne *et al.*, 2009) des espèces. Les phénomènes météorologiques extrêmes (e.g. inondation ou sécheresse) ont également tendance à se multiplier. Dans les milieux aquatiques, les changements climatiques se traduisent par un réchauffement de l'eau et la modification des régimes hydrauliques des cours d'eau. Dans les zones de montagne, ces changements ont notamment pour conséquence de raccourcir la durée de la période enneigée ainsi que de réduire les quantités de neige et donc, des apports en eau lors de la période de fonte (Young *et al.*, 2016).

Les effets individuels de ces principales menaces dépendent de l'intensité des perturbations exercées à l'échelle locale mais peuvent aussi souvent se combiner et agir en synergie, avec la possibilité de conduire à des réactions en chaîne affectant la biodiversité qui y est associée mais aussi la structure et le fonctionnement des écosystèmes (Laffaille & Brosse, 2011).

1.2. LES STRATEGIES DE CONSERVATION DE LA BIODIVERSITE AQUATIQUE

1.2.1. Pourquoi faut-il agir ?

Dans sa définition de l'écosystème, Tansley (1935) met l'accent sur les interactions qui existent entre les espèces elles-mêmes mais également entre les espèces et les paramètres physiques de leurs habitats. Ces interactions sont si fortes que le déclin ou la disparition d'une seule espèce dans un milieu perturbé se produit rarement de façon isolée (Young *et al.*, 2016) et que la modification d'un paramètre de l'habitat peut influencer toutes les espèces qui y sont associées. Des extinctions secondaires peuvent ainsi toucher des espèces qui étaient initialement plus résistantes aux perturbations, par le biais d'effets en cascade, le plus souvent agissant dans les réseaux trophiques (Allan & Flecker, 1993). Par exemple, l'introduction d'un crustacé *Mysis relicta*, supposé améliorer la

disponibilité des ressources trophiques du saumon rouge *Oncorhynchus nerka* introduit dans plusieurs lacs américains, a induit de multiples réactions en chaîne au sein des réseaux trophiques de ces milieux avec un effet inverse à celui initialement attendu (Spencer *et al.*, 1991). En effet, en adaptant ses rythmes d'activité, ce crustacé a été capable de limiter les risques de prédation par le saumon rouge qui n'a ainsi pas pu bénéficier de cette ressource alimentaire supplémentaire. Par contre, la pression de prédation exercée par ce crustacé sur le zooplancton, proie dont se nourrissait également le saumon rouge, a induit une forte diminution de l'abondance des populations de ce poisson avec des répercussions directes sur l'abondance de ses prédateurs (e.g. aigle, ours). De ce fait, une nette baisse de la fréquentation touristique de ces lacs a été observée avec un impact négatif sur l'économie locale (Spencer *et al.*, 1991). Ainsi, une modification des interactions existantes au sein d'un écosystème peut mener, par des effets de réactions en chaîne, au déséquilibre du système tout entier avec un effet négatif sur son fonctionnement.

Si de tels effets peuvent être rapidement observés et même quantifiés, c'est surtout parce qu'ils impactent des fonctions et des processus écosystémiques directement utiles à l'Homme et à son économie, notamment certains « services écosystémiques » (e.g. approvisionnement en nourriture et en eau, régulation des maladies, loisirs ; Millennium Ecosystem Assessment, 2005 ; Boulton *et al.*, 2016 ; Pearson, 2016 ; Young *et al.*, 2016). Mais la vision des espèces et des écosystèmes au travers de ces seuls « services » est assez réductrice car d'un point de vue purement éthique, ils bénéficient d'une valeur intrinsèque (Ormerod, 2014 ; Pearson, 2016) et d'un droit d'exister (Vucetich *et al.*, 2015). De plus, l'absence d'effet visible ne signifie pas que l'effet n'existe pas, il peut être discret ou retardé. Dans tous les cas, et même si la perte de biodiversité induit un impact négligeable à court terme, le simple fait de modifier un seul maillon dans un réseau a des conséquences sur l'ensemble de l'écosystème qui sera éventuellement moins à même de résister à l'accroissement des perturbations auxquelles il fait face (i.e. résilience des écosystèmes ; e.g. Oliver *et al.*, 2015).

Dans un contexte où les pressions exercées sur les milieux aquatiques continentaux s'intensifient à mesure que les populations humaines s'accroissent (Collares-Pereira & Cowx, 2004 ; Vörösmarty *et al.*, 2010), le nombre d'espèces menacées va continuer de croître. Ainsi, seule une gestion durable et pragmatique de ces milieux pourrait permettre de stopper, voire d'inverser, la tendance actuelle de déclin de biodiversité (Butchart *et al.*, 2010).

1.2.2. Quelles méthodes de gestion pour les milieux aquatiques ?

Les stratégies de gestion qui peuvent être mises en place dans les milieux aquatiques s'inspirent des mesures de gestion appliquées aux écosystèmes terrestres, qui sont bien plus anciennes (Collares-Pereira & Cowx, 2004 ; Laffaille & Brosse, 2011) et s'orientent autour de deux grands concepts : (i) agir sur un écosystème déjà dégradé pour en améliorer l'état écologique (e.g. intervention sur les espèces et les communautés, régulation des usages, restauration), ou (ii) protéger les espèces et leurs habitats tant qu'ils sont encore préservés (i.e. conservation ; Young, 2000 ; Collares-Pereira & Cowx, 2004 ; Laffaille & Brosse, 2011).

Les mesures préventives de conservation sont souvent considérées comme plus efficaces et moins coûteuses que les mesures de restauration (Leuven & Poudevigne, 2002 ; Aronson *et al.*, 2006). Par exemple, Collares-Pereira & Cowx (2004) estiment que les effets négatifs causés par la synergie d'impacts anthropiques et des changements climatiques pourraient être irréversibles pour beaucoup d'habitats et d'espèces, pour lesquels des objectifs de restauration seraient alors irréalisables. Dans le cas d'intervention au niveau des communautés, par exemple dans le cas de l'éradication d'espèces invasives, la faisabilité des mesures de gestion est remise en question en termes de coût et de succès lorsque ces problèmes sont traités trop tardivement et/ou que les espèces se sont déjà établies (Pimentel *et al.*, 2005). Dans les milieux aquatiques, les mesures de restauration qui ciblent l'amélioration de la connectivité (e.g. passage à loutre, Lafontaine & Liles, 2005) et de la qualité physico-chimique des cours d'eau représentent cependant d'importants leviers d'action pour favoriser le maintien des espèces aquatiques et semi-aquatiques (Allan & Flecker, 1993 ; Laffaille & Brosse, 2011).

La protection des milieux préservés mais menacés, et des espèces qui y sont associées, reste cependant une priorité pour les parties prenantes des disciplines de la conservation. Elle se traduit notamment par la mise en place d'aires protégées comme une mise « sous cloche » de territoires afin de prévenir toutes perturbations futures (Allan & Flecker, 1993). Dans les milieux aquatiques, ces aires protégées sont cependant confrontées à des problèmes liés à leur échelle d'implémentation. En effet, les aires protégées sont le plus souvent créées pour protéger des habitats terrestres (Filipe *et al.*, 2004) où peu d'attention est portée sur les habitats et les espèces aquatiques (Saunders *et al.*, 2002 ; Abell *et al.*, 2007). Elles protègent ainsi de manière étendue les portions de rivières qui les traversent, mais de façon fragmentée, sans tenir compte de la connectivité nécessaire pour conserver la biodiversité aquatique (Lasne *et al.*, 2007b). En effet, les menaces qui pèsent sur les milieux aquatiques s'exercent bien au-delà des limites des zones protégées terrestres et sont transportées des terres vers les cours d'eau, puis au sein du réseau hydrographique et s'accumulent

de l'amont vers l'aval (Saunders *et al.*, 2002 ; Malmqvist & Rundle, 2002). De plus, l'utilisation du milieu terrestre par les espèces semi-aquatiques pour leur gîte (e.g. zones ripariennes) ou leur dispersion (e.g. corridors terrestres et plaine alluviale ; Centeno-Cuadros *et al.*, 2011 ; Laurence *et al.*, 2013) nécessite la prise en compte des menaces anthropiques qui pourraient les impacter au-delà du milieu aquatique (e.g. dégradation des habitats de berges : Pedroso *et al.*, 2014 ; collisions routières lors de la dispersion : Glista *et al.*, 2007 ; Jancke & Giere, 2011). De ce fait, les aires protégées mises en place pour les écosystèmes terrestres sont souvent incompatibles avec les zones nécessaires pour la conservation d'espèces aquatiques ou semi-aquatiques (e.g. amphibiens ; Pawar *et al.*, 2007). Une gestion durable et efficace des espèces et des écosystèmes continentaux d'eau douce ne peut donc être pertinente qu'en prenant en compte la totalité du réseau hydrographique à l'échelle du bassin versant (Saunders *et al.*, 2002 ; Collares-Pereira & Cowx, 2004 ; Bergerot *et al.*, 2008 ; Ottaviani *et al.*, 2009).

Ainsi, en pratique, ces approches de conservation centrées sur la conservation des bassins versants sont peu appliquées du fait de leur difficulté de mise en œuvre (e.g. grandes surfaces concernées, nombre important d'acteurs en jeu, conflits possibles avec les usages et pressions socio-économiques, peu d'exemples de réussite ; Abell *et al.*, 2007 ; Laffaille & Brosse, 2011). D'autres types de mesures de conservation, cette fois centrées sur les espèces, sont donc également nécessaires et complémentaires des précédentes, afin de pouvoir préserver la totalité des habitats utilisés par une espèce au cours de l'accomplissement de son cycle biologique (e.g. espèces semi-aquatiques). De plus, les actions menées en faveur d'une espèce peuvent également bénéficier aux autres organismes qui partagent les mêmes milieux (i.e. principe de l'espèce « parapluie » ; Simberloff, 1998) lorsqu'elles visent à protéger ses habitats. La compréhension des facteurs qui gouvernent l'écologie et la biologie de l'espèce ciblée, et donc des interactions avec son environnement physique et les autres organismes qui y sont présents, constitue une première étape essentielle pour évaluer sa vulnérabilité (Rodrigues *et al.*, 2006) et limiter son déclin (Rushton *et al.*, 2004).

1.2.3. Comment définir les priorités de gestion pour la conservation des espèces ?

Du fait des ressources limitées mises à disposition pour la conservation de la biodiversité, il n'est actuellement pas possible de conserver toutes les espèces menacées (Wilson *et al.*, 2006). Le choix des espèces sur lesquelles les efforts de conservation devraient être priorisés repose sur les mêmes critères que la sélection des aires géographiques prioritaires. Par exemple sont généralement pris en

compte l'endémisme, la rareté ou encore la vulnérabilité qui peuvent être considérés individuellement ou en combinaison (Myers *et al.*, 2000 ; Bergerot *et al.*, 2008 ; Maire, 2014). D'autres critères plus anthropocentrés sont également pris en compte comme la valeur économique et commerciale d'une espèce (e.g. son intérêt pour les pêcheurs ; Maire *et al.*, 2013), ou sa valeur culturelle au travers de son caractère emblématique auprès du grand public (e.g. Colléony *et al.*, 2017). L'implication du grand public est en effet un élément important pour la réussite d'un programme de conservation qui doit bénéficier d'engagements humains et financiers (Colléony *et al.*, 2017), tant au niveau des décideurs politiques que des populations locales qui devront accepter et vivre avec les mesures de gestion mises en place.

Des listes déclinées au niveau international telles que la liste rouge de l'UICN (Rodrigues *et al.*, 2006) répertorient un certain nombre d'espèces prioritaires pour lesquelles des données sont disponibles en fonction du degré de menaces qu'elles subissent et peuvent servir d'indicateur de l'état global de la biodiversité. Ces listes doivent cependant être prises avec précaution (Possingham *et al.*, 2002 ; Mace *et al.*, 2008) puisque les espèces les plus menacées peuvent nécessiter des efforts très importants et coûteux de conservation pour de faibles chances de succès et ne correspondraient donc pas à une dépense optimale des fonds limités mis à disposition (Possingham *et al.*, 2002). La définition des objectifs de conservation, de leur faisabilité et des métriques pour évaluer leur efficacité représente donc un point important pour la mise en place de stratégies de conservation efficaces. De plus, les statuts de conservation à l'échelle mondiale peuvent être éloignés des besoins des espèces à l'échelle plus locale où sont mises en place les mesures de gestion. La nécessité de retranscrire ces listes à l'échelle nationale et régionale selon des critères clairs et communs est d'ailleurs reconnue par la communauté scientifique (e.g. Gärdenfors, 2001 ; Miller *et al.*, 2007 ; Hoffmann *et al.*, 2008 ; Brito *et al.*, 2010).

En France, la liste rouge des espèces menacées a été réalisée par le Comité français de l'UICN et le Muséum National d'Histoire Naturelle et est également complétée par des listes rouges régionales. La création de ces listes a bénéficié de la contribution de partenaires locaux (e.g. établissements tels que les Conservatoires d'Espaces Naturels, associations naturalistes) qui disposent d'une expertise sur le statut de conservation des espèces présentes sur leurs territoires. Cependant, les listes rouges sont uniquement des outils de communication et d'alerte auprès notamment du grand public, des décideurs politiques et des scientifiques, puisqu'elles ne bénéficient pas d'une valeur réglementaire comme c'est le cas pour les listes d'espèces répertoriées par la CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) ou la directive européenne 92/43/CEE « Habitat-Faune-Flore ». En effet, au contraire des listes rouges, ces dispositifs sont contractuels et impliquent des possibilités de sanctions en cas de manquement aux

engagements qui sont pris pour la conservation des espèces et des habitats. Les listes rouges peuvent tout de même être utilisées comme référence pour informer sur les espèces qui pourraient nécessiter une protection réglementaire et des mesures ou programmes de conservation (Hoffmann *et al.*, 2008 ; Barneix & Gigot, 2013). Par exemple, le choix des espèces qui nécessitent la mise en place de Plans Nationaux d'Actions (PNA), et donc d'actions de gestion importantes et spécifiques, est basé notamment en France sur leur présence dans la liste rouge nationale de l'UICN, le type de menaces qu'elles subissent mais également la notion de responsabilité patrimoniale du pays vis-à-vis de ces espèces (i.e. responsabilité morale d'un territoire posée par la présence de populations locales d'une espèce importantes pour son maintien et sa survie à l'échelle globale ; e.g. Schmeller *et al.*, 2008 ; Barneix & Gigot, 2013). Dans ce sens, les espèces endémiques présentes sur le territoire français sont d'autant plus prioritaires que leur statut d'espèces rares augmente leur risque d'extinction (Gaston, 1998).

1.3. LE DESMAN DES PYRENEES

1.3.1. Description générale de l'espèce

Le desman des Pyrénées, *Galemys pyrenaicus*, est un petit mammifère semi-aquatique de la famille des Talpidae (Figure 1-3). Au stade adulte, son corps mesure une douzaine de centimètres auquel s'ajoute environ la même longueur de queue pour un poids qui varie entre 50 et 60 g. Il gîte dans des cavités de berges au bord des cours d'eau dans lesquels il se déplace et chasse pour se nourrir principalement d'invertébrés aquatiques (Bertrand, 1994). Doté d'adaptations morphologiques pour se déplacer dans le milieu aquatique, y compris dans les zones de fort courant, le desman des Pyrénées possède une fourrure isolante épaisse et dense (avec deux couches de poils), des pattes postérieures très développées et semi-palmées et une queue comprimée verticalement pourvue d'une rangée de poils qui lui sert de gouvernail (Puisségur, 1935). Ses oreilles sans pavillon et ses yeux minuscules sont dissimulés sous sa fourrure. Sa tête porte plusieurs organes tactiles dont une trompe mobile et préhensile dotée de très nombreux organes d'Eimer, ainsi que des vibrisses qui jouent un rôle primordial pour la perception de son environnement (Puisségur, 1935).



Figure 1-3 : Photographies du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*).

Le desman des Pyrénées est endémique du quart nord-ouest de la péninsule ibérique (nord du Portugal, nord et centre de l'Espagne) et du massif pyrénéen (France, Andorre, Espagne). Il présente ainsi une aire de répartition mondiale très limitée (Figure 1-4).

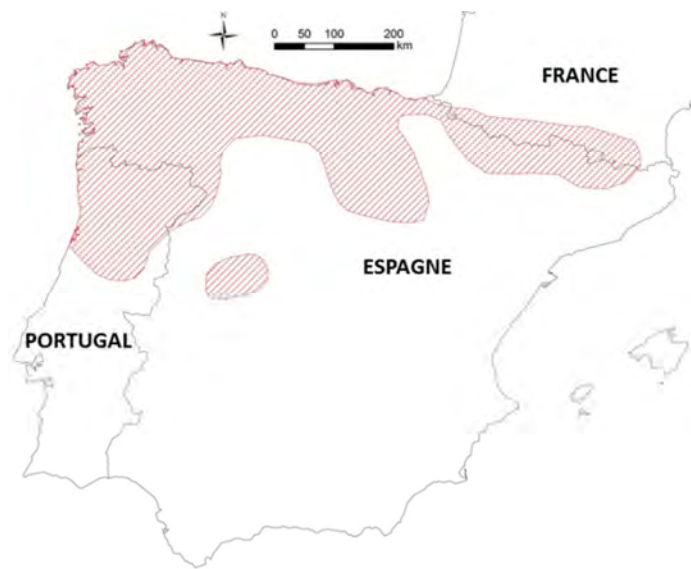


Figure 1-4 : Aire de répartition mondiale du desman des Pyrénées © UICN 2008.

Des études récentes de génétique des populations suggèrent une faible diversité génétique du desman des Pyrénées. Il existerait tout de même quatre (Igea *et al.*, 2013) à cinq (Querejeta *et al.*,

2016) populations génétiquement différenciées selon les marqueurs utilisés (i.e. ADN mitochondrial vs. ADN nucléaire respectivement), au sein de son aire de répartition (Figure 1-5). Ces différenciations seraient liées aux glaciations du Pléistocène.

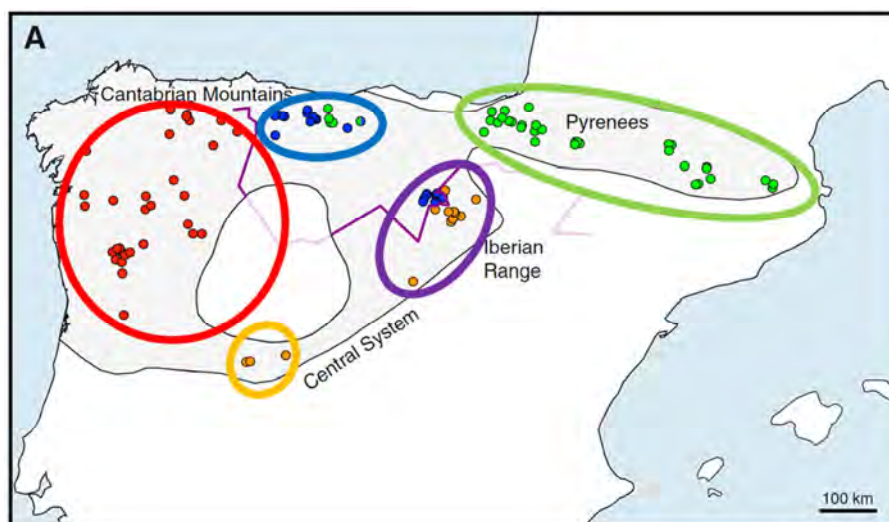


Figure 1-5 : Populations du desman des Pyrénées différenciées génétiquement par leur ADN mitochondrial (i.e. 4 groupes : points de différentes couleurs ; Igea et al., 2013) ou par leur ADN nucléaire (i.e. 5 groupes : ellipses de différentes couleurs ; Querejeta et al., 2016) au sein de son aire de répartition (modifié d'après Igea et al., 2013).

Une différenciation génétique est également observée à plus fine échelle entre bassins versants proches, notamment dans les Pyrénées (Gillet, 2015 ; Escoda *et al.*, 2017 ; Querejeta *et al.*, 2017). Elle peut en partie être expliquée par la relativement faible dispersion des individus, qui est principalement contrainte par la structure du réseau hydrographique (même si la dispersion peut aussi être terrestre), et qui provoque de forts taux de consanguinité entre individus d'une même rivière (Escoda *et al.*, 2017).

Les mœurs discrètes du desman des Pyrénées qui incluent des périodes d'activité nocturnes (Melero *et al.*, 2014) font de lui une espèce cryptique difficile à observer. L'espèce semble néanmoins active tout au long de l'année y compris lorsque les cours d'eau sont recouverts de neige. Son espérance de vie serait de l'ordre de 2 à 3 ans (Némoz & Bertrand, 2008). Le desman des Pyrénées ne serait pas une espèce strictement territoriale. En effet, des suivis télémétriques ont montré que son domaine vital correspond à un linéaire de cours d'eau d'environ 500 m de long où des individus d'âge et de sexe différents se croisent et peuvent occuper simultanément les mêmes gîtes (Melero *et al.*, 2012a). La période de reproduction du desman des Pyrénées s'étendrait de janvier à juillet. Les femelles pourraient produire jusqu'à cinq jeunes par portée mais la durée de gestation reste encore mal connue (Peyre, 1956) tout comme le nombre de portées par an (Némoz & Bertrand, 2008) et le taux de survie des jeunes.

1.3.2. Régression des populations, menaces et outils de conservation

Le desman des Pyrénées est listé comme « espèce vulnérable » dans la liste rouge mondiale de l'UICN (Fernandes *et al.*, 2008) signifiant qu'il est soumis à un risque élevé d'extinction. L'UICN le classe pour la France comme « espèce quasi menacée ». Le desman des Pyrénées et ses habitats sont protégés dans les quatre pays où il est présent (France, Andorre, Espagne, Portugal). Il est également inscrit au niveau européen sur les annexes II et IV de la directive 92/43/CEE « Habitat-Faune-Flore » et est protégé par la convention de Berne (annexe II).

Au cours des dernières décennies, les populations de desman des Pyrénées ont subi un important déclin sur l'ensemble de son aire de répartition (Gisbert & García-Perea, 2014 ; Pedroso & Chora, 2014 ; Charbonnel *et al.*, 2016 ; Figure 1-6 en France). Dans les Pyrénées françaises, une diminution significative des probabilités de présence de l'espèce a été observée dans plus de deux tiers des cours d'eau entre les années 1985 et 2013 (Charbonnel *et al.*, 2016), sans que les principales causes de cette diminution n'aient pu être clairement identifiées. En effet, les changements d'occupation du sol ou les changements climatiques survenus au cours des 20 dernières années ne sont pas suffisants pour expliquer l'importante contraction de l'aire de répartition du desman des Pyrénées (Charbonnel *et al.*, 2016).

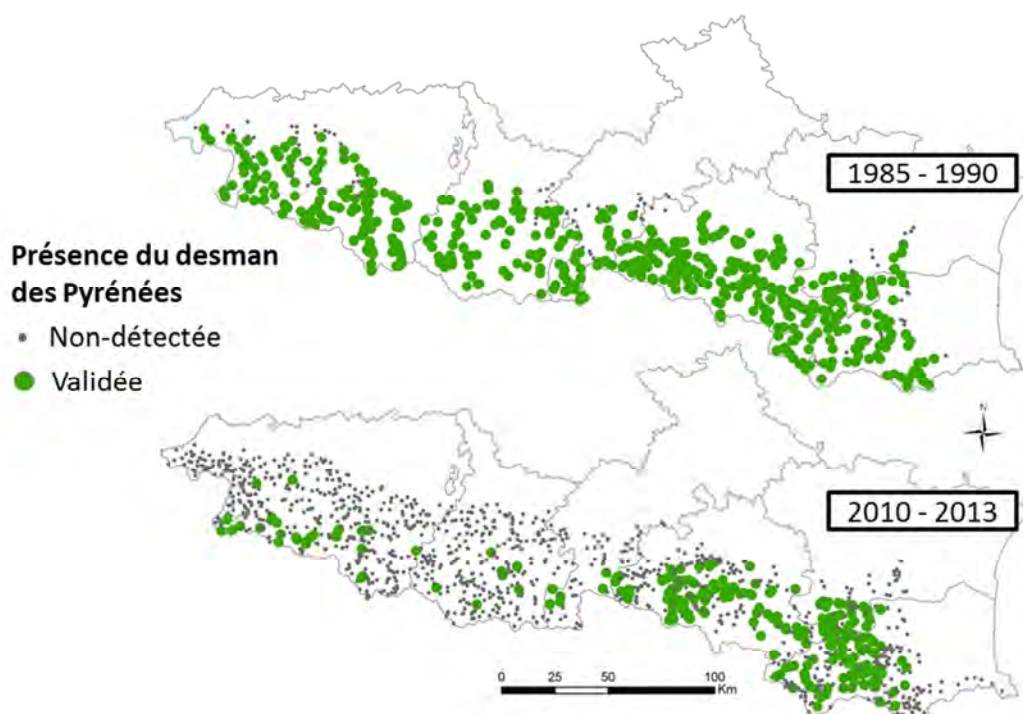


Figure 1-6 : Evolution de l'aire de répartition française du desman des Pyrénées entre les années 1985-1990 et 2010-2013. Les données sont issues du Plan National d'Actions en faveur de l'espèce (© CEN-MP) et Bertrand (1994) pour la période historique et Charbonnel (2015) et Charbonnel *et al.* (2016) pour la période actuelle.

Son aire de répartition restreinte lui confère une vulnérabilité accrue au risque d'extinction (Gaston, 1998). Les principales menaces, non exclusives et non hiérarchisées, identifiées pour le desman des Pyrénées (Némoz & Bertrand, 2008) sont :

- (i) la modification de ses habitats par l'aménagement des bassins versants et notamment la modification des régimes hydrauliques des cours d'eau par les ouvrages hydrauliques (Queiroz *et al.*, 1993). Ces derniers tendent à homogénéiser les habitats de rivière avec des conséquences sur la diversité et l'abondance des communautés aquatiques. La modification de la végétalisation des berges est également citée du fait du couvert forestier important généralement associé aux sites de présence de l'espèce (Némoz & Bertrand, 2008) ;
- (ii) la pollution des cours d'eau issue d'activités agricoles ou industrielles qui peut affecter les invertébrés aquatiques dont le desman des Pyrénées se nourrit (e.g. Santamarina & Guitian, 1988 ; Bertrand, 1994) ;
- (iii) les changements climatiques (Williams-Tripp *et al.*, 2012 ; Charbonnel *et al.*, 2016) qui peuvent limiter les habitats disponibles pour le desman des Pyrénées et ses proies en réduisant la surface en eau des cours d'eau et en exacerbant la fragmentation de ces milieux (Heino *et al.*, 2009). L'augmentation des températures de l'eau peut également modifier les communautés d'invertébrés aquatiques avec le remplacement des espèces d'eau froide par des espèces plus tolérantes (Heino *et al.*, 2009 ; Domisch *et al.*, 2013) et ainsi modifier la disponibilité voire la qualité des ressources trophiques pour le desman des Pyrénées ;
- (iv) l'introduction du vison d'Amérique *Neovison vison*, un carnivore semi-aquatique devenu invasif et dont l'aire de répartition continue de s'étendre en France (Léger & Ruetten, 2005) avec un impact potentiellement négatif sur le maintien des populations de desman des Pyrénées (e.g. Gisbert & García-Perea, 2014) ;
- (v) la compétition avec des espèces de poissons introduits (e.g. truite arc en ciel *Oncorhynchus mykiss*) ou natifs (e.g. truite fario *Salmo trutta*, anguille *Anguilla anguilla*), d'oiseaux (e.g. cincle plongeur *Cinclus cinclus*) ou de mammifères (e.g. crossopes aquatiques *Neomys* sp. ; Peyre, 1956 ; Santamarina, 1993 ; Bertrand, 1994) ;
- (vi) les sports de loisir aquatique comme le canyoning, qui sont à l'origine d'un piétinement intense des cours d'eau et qui pourraient directement déranger le desman des Pyrénées lors de ses quelques phases d'activité diurne ou indirectement en altérant la structure et la composition des communautés aquatiques benthiques (Hardiman & Burgin, 2011) ;

- (vii) la destruction directe par collision routière qui reste cependant anecdotique, ou par les pisciculteurs et pêcheurs sur le desman des Pyrénées (Némoz & Bertrand, 2008) ;
- (viii) les parasites, pathogènes et la stérilité des femelles par un éventuel dysfonctionnement endocrinien. Ces dernières menaces restent très peu connues et peu étudiées jusqu'à présent (Némoz & Bertrand, 2008).

Face à ce déclin, aux menaces qui pèsent sur le desman des Pyrénées, à la responsabilité des quatre pays où il est établi (i.e. mammifère endémique), et dans le contexte actuel d'érosion de la biodiversité, des initiatives locales, nationales et internationales ont émergé avec la mise en place de plusieurs outils financiers et d'aide à la gestion. En France, un Plan National d'Actions en faveur du desman des Pyrénées (PNAD) a été initié en 2010-2015 (Némoz & Bertrand, 2008) et est actuellement suivi par un programme européen LIFE+ (2014-2020, LIFE13 NAT/FR/000092, <http://www.desman-life.fr/> ; LIFE+ Desman, 2013), tous deux portés par le Conservatoire d'Espaces Naturels Midi-Pyrénées (CEN-MP). Deux autres programmes LIFE+ ont également été réalisés au Portugal entre 1994 et 1996 (LIFE94 NAT/P/004842 incluant plusieurs autres espèces cibles) et en Espagne entre 2012 et 2017 (LIFE11 NAT/ES/000691 ; <http://www.lifedesman.es/>). Tous ces projets s'articulent autour d'objectifs communs dont la conciliation de la conservation du desman des Pyrénées avec les activités humaines, la sensibilisation du grand public mais aussi l'amélioration des connaissances sur les exigences écologiques de cette espèce afin de pouvoir proposer des mesures de gestion adaptées.

1.3.3. Etat des connaissances sur les exigences écologiques du desman des Pyrénées

Les premières études sur les exigences écologiques du desman des Pyrénées se sont limitées à une description qualitative de son habitat dans des aires géographiques restreintes n'incluant qu'un faible nombre de sites d'étude (e.g. Puisségur, 1935 ; Peyre, 1956 ; Richard, 1976 ; Palmeirim, 1983 ; Hernandez, 1988). Ces études ont toutefois mis en évidence que le desman des Pyrénées semblait préférer des cours d'eau présentant un régime hydraulique pluvio-nival, des eaux froides, permanentes, avec des courants plutôt rapides, dans lesquels le substrat est majoritairement composé de blocs rocheux non colmatés ce qui favorise une faune d'invertébrés riche et diversifiée (i.e. sa ressource alimentaire), et où des cavités pouvant servir de gîtes sont présentes dans les berges (Peyre, 1956 ; Richard, 1976 ; Castién & Gosálbez, 1992 ; Bertrand, 1994 ; Aymerich & Gosálbez, 2002, 2014).

Dans le cadre du PNAD, la thèse d'Anaïs Charbonnel (Charbonnel, 2015) a permis d'affiner les connaissances sur les variables environnementales qui influencent la distribution de l'espèce dans les Pyrénées françaises, et ce, à différentes échelles spatiales. A l'échelle du domaine vital de l'espèce (i.e. ≈ 500 m), le desman des Pyrénées semble sélectionner activement son habitat au regard de paramètres physiques du lit mineur et des berges des cours d'eau (Biffi *et al.*, 2016). Il est notamment plus présent dans des cours d'eau qui possèdent une forte diversité de substrats et d'abris, des faciès d'écoulement hétérogènes à dominance de radiers (i.e. courant plutôt fort), un colmatage limité de leur fond et des berges composées majoritairement de roches plutôt que de terre (Figure 1-7).



Figure 1-7 : Cours d'eau considérés comme favorables pour le desman des Pyrénées (Charbonnel, 2015).

Les variables associées au lit majeur influenceraient moins la distribution du desman des Pyrénées, suggérant une certaine tolérance de ce dernier aux activités humaines qui se produisent dans les terres, dans la mesure où les impacts sur l'environnement n'atteignent pas les cours d'eau (Biffi *et al.*, 2016). A l'échelle d'un bassin versant, la présence du desman des Pyrénées est fortement liée à la présence d'affluents et à des débits de cours d'eau assez importants (Charbonnel *et al.*, 2015), suggérant ainsi sa vulnérabilité potentielle à la perte de connectivité, à la modification et surtout à la réduction des débits engendrée par les activités anthropiques (e.g. hydroélectricité, captage d'eau pour l'irrigation) ou les changements climatiques (i.e. modification des régimes pluviaux).

Enfin, d'autres études ont relié la présence du desman des Pyrénées à des facteurs environnementaux agissant à une échelle spatiale plus large tels que la topographie, le climat, la présence humaine ou encore la position géographique des sites (Barbosa *et al.*, 2009 ; Morueta-Holme *et al.*, 2010 ; Williams-Tripp *et al.*, 2012). Ces études ont mis en évidence une influence positive des précipitations et plus généralement de la disponibilité en eau, de la pente et de l'altitude des cours d'eau sur la distribution du desman des Pyrénées, mais une influence négative de la température et de la présence humaine (i.e. densité de population). Williams-Tripp *et al.* (2012) ont

également montré que la modélisation des habitats du desman des Pyrénées n'était pas transférable entre différentes zones géographiques de son aire de répartition (i.e. Espagne vs. Pyrénées françaises), suggérant ainsi une plasticité locale au regard des facteurs environnementaux étudiés.

Ainsi, malgré une très nette amélioration des connaissances sur l'habitat du desman des Pyrénées et les facteurs qui gouvernent sa distribution au cours de ces dernières années, plusieurs zones d'ombre demeurent et suggèrent de nouvelles voies de recherche.

1.3.4. Des connaissances à combler sur...

1.3.4.1. ... les habitats préférentiels du desman des Pyrénées

En plus des paramètres physiques de l'habitat des cours d'eau (e.g. type de substrat, débit, présence de végétation), la qualité chimique de l'eau est un autre facteur important pour expliquer la distribution et l'abondance des espèces aquatiques et semi-aquatiques (Kibichii *et al.*, 2015 ; Azimi & Rocher, 2016 ; Mieza-Paez *et al.*, 2016). Bien que son influence ait été suggérée pour le desman des Pyrénées, notamment du fait de ses proies aquatiques préférentielles (e.g. Ephéméroptères, Plécoptères et Trichoptères ; Santamarina, 1992 ; Bertrand, 1994) qui sont indicatrices d'une eau de bonne qualité (e.g. Usseglio-Polatera *et al.*, 2000a), aucune étude n'a réellement testé l'influence de la qualité chimique de l'eau sur la présence du desman des Pyrénées. L'espèce pourrait pourtant être impactée directement par une mauvaise qualité des eaux avec des conséquences sur sa biologie ou sa physiologie, comme cela peut être observé chez les poissons (e.g. vulnérabilité accrue aux parasites, réduction de la fécondité ; Benejam *et al.*, 2010b), ou indirectement par des impacts sur son milieu (e.g. eutrophication, anoxie) et sur ses proies.

De même, les activités anthropiques qui modifient les habitats aquatiques sont une des causes majeures de perte de la biodiversité aquatique (e.g. Malmqvist & Rundle, 2002 ; Collares-Pereira & Cowx, 2004 ; Dudgeon *et al.*, 2006). Jusqu'à présent, l'influence des activités humaines a été testée à partir de variables telles que la densité de populations ou d'obstacles à l'écoulement ou encore l'occupation des sols à proximité des cours d'eau, mais jamais à l'échelle plus locale du lit mineur dont les caractéristiques physiques sont pourtant connues pour influencer la présence du desman des Pyrénées (Biffi *et al.*, 2016). Des sources anthropiques de perturbations exercées très localement telles que le piétinement des rivières par les activités de loisirs ou par les troupeaux et la présence de système de captage de l'eau ou de micro-seuils de rivière pourraient influencer la présence de l'espèce dont les habitats de chasse et la ressource trophique pourraient être altérés. D'autres paramètres physiques du lit mineur tels que la granulométrie des substrats ou la profondeur des

rivières ont également été peu étudiés pour le desman des Pyrénées mais sont connus pour influencer les assemblages d'espèces et leurs densités au sein des communautés d'invertébrés benthiques (e.g. Hussain & Pandit, 2012) dont il se nourrit (e.g. Bertrand, 1994).

1.3.4.2. ... les interactions avec d'autres espèces

Si les facteurs abiotiques contraignent la distribution des espèces, notamment à large échelle spatiale (Pearson & Dawson, 2003), les interactions biotiques telles que la compétition, la prédation, le mutualisme, la facilitation ou encore le parasitisme sont tout aussi importantes pour expliquer leur présence dans un habitat à différentes échelles spatiales (Boulangeat *et al.*, 2012 ; Kissling *et al.*, 2012 ; Wisz *et al.*, 2013). Pourtant, dans le cas du desman des Pyrénées, les connaissances sur les interactions qu'il entretient avec les espèces qui partagent les mêmes cours d'eau, restent à ce jour encore mal connues.

❖ Ressources trophiques

Une réduction des ressources trophiques est une des causes importantes de perturbations des populations de prédateurs et peut représenter une limite pour leur maintien (e.g. Wolf & Ripple, 2016). Par exemple, le lynx ibérique (*Lynx pardinus*) et l'aigle ibérique (*Aquila adalberti*) sont actuellement en danger d'extinction notamment à cause du déclin des populations de leur proie principale, le lapin de garenne (*Oryctolagus cuniculus*), en réponse à des épidémies successives de myxomatose et de fièvre hémorragique et à des changements environnementaux (Ferrer & Negro, 2004 ; Real *et al.*, 2009). Ainsi, il peut être supposé que le déclin du desman des Pyrénées pourrait être dû à une diminution de la disponibilité de ses proies au sein de son aire de répartition et à l'absence de flexibilité de son régime alimentaire vers des proies alternatives.

Le régime alimentaire du desman des Pyrénées a déjà fait l'objet de plusieurs études qui l'ont identifié comme un prédateur spécialiste des macroinvertébrés aquatiques des cours d'eau et notamment des trois grands ordres précédemment cités : les Ephéméroptères, Plécoptères et Trichoptères (Trutat, 1891 ; Puisségur, 1935 ; Richard & Vallette Vialard, 1969 ; Santamarina & Guitian, 1988 ; Santamarina, 1993 ; Bertrand, 1994 ; Castién & Gosálbez, 1995). Ces conclusions proviennent de l'observation de restes de proies contenus dans les fèces ou le tractus digestif de desman des Pyrénées. Au-delà du problème éthique que pose le sacrifice d'individus de cette espèce protégée dans le cas de l'analyse de contenus stomacaux et intestinaux, ces méthodes d'identification des proies sont également limitées par la dégradation des restes alimentaires qui empêche un recensement exhaustif des proies. Elles nécessitent par ailleurs une bonne connaissance

naturaliste d'identification des différentes proies potentielles de l'espèce, ce qui restreint aussi le niveau taxonomique de leur identification (Pompanon *et al.*, 2012). De nouvelles approches de génétique moléculaire développées dans le cadre du PNAD et de la thèse de François Gillet (Gillet, 2015) ont montré leur efficacité pour identifier les proies du desman des Pyrénées à un niveau taxonomique très fin (i.e. genre voire espèce). L'application de ces nouveaux outils à des fèces de desman des Pyrénées collectées sur l'ensemble de son aire de répartition pourrait permettre de (i) décrire exhaustivement son régime alimentaire, (ii) le comparer à celui décrit à partir de méthodes plus traditionnelles basées sur l'identification visuelle des proies ainsi qu'aux proies présentes dans le milieu pour confirmer son caractère spécialiste, et (iii) comparer ce régime alimentaire dans différentes zones géographiques de son aire de répartition afin de mettre en évidence une éventuelle plasticité entre populations.

❖ Compétiteurs

La compétition pour la ressource trophique est une des hypothèses formulées pour expliquer la diversification évolutive des espèces (Hutchinson, 1957). Ainsi, une utilisation différente des ressources conduirait à la diminution de la compétition entre des espèces qui coexistent et partagent des niches écologiques similaires (Pianka, 1973). Ces mécanismes de ségrégation de niche sont d'autant plus importants lorsque la ressource est limitante dans le milieu et exacerbe l'intensité des interactions. De plus, la compétition entre les espèces semi-aquatiques peut être favorisée par l'environnement spatialement contraint qu'elles utilisent (i.e. linéaire de cours d'eau et zones ripariennes ; Galliez & Fernandez, 2012). Il est donc important de comprendre les mécanismes par lesquels les espèces interagissent dans un contexte de gestion et de conservation (Ward *et al.*, 2006). Par exemple, la récente contraction de l'aire de distribution du vison d'Europe (*Mustela lutreola*) semble liée à une synergie de facteurs incluant des dégradations et réductions de ses habitats et à la compétition avec le vison d'Amérique introduit et invasif en Europe (Maran *et al.*, 2016). Des perturbations anthropiques peuvent également favoriser une espèce compétitrice par rapport à une autre. Par exemple, la coexistence entre le rat d'eau *Nectomys squamipes* et l'opposum aquatique *Chironectes minimus* est permise par la ségrégation spatiale de leurs habitats qui induit cependant une plus grande vulnérabilité de l'opposum aquatique à la déforestation des zones ripariennes (Galliez & Fernandez, 2012).

Plusieurs espèces aquatiques et semi-aquatiques utilisent les mêmes habitats et/ou ressources trophiques que le desman des Pyrénées. Elles pourraient ainsi devenir compétitrices du desman des Pyrénées dans un contexte perturbé où leurs ressources trophiques deviendraient limitantes. Les espèces citées sont notamment la truite et le cincle plongeur (Santamarina & Guitian, 1988 ;

Santamarina, 1993 ; Bertrand, 1994), la crossope aquatique (*Neomys fodiens* ; Santamarina & Guitian, 1988 ; Castién & Gosálbez, 1999 ; Morueta-Holme *et al.*, 2010), la crossope de Miller (*Neomys anomalus* ; Santamarina, 1993) et le calotriton des Pyrénées (*Calotriton asper* ; Bertrand, 1994 ; Figure 1-8).

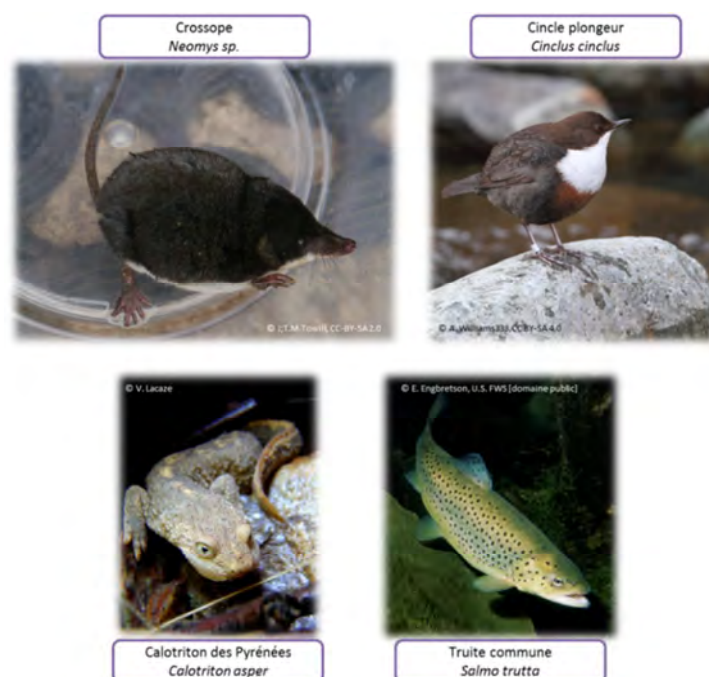


Figure 1-8 : Espèces aquatiques et semi-aquatiques utilisant des habitats et des proies similaires à ceux du desman des Pyrénées.

Parmi ces compétiteurs potentiels, la crossope aquatique est une musaraigne semi-aquatique de la famille des Soricidae qui mesure environ 7-9 cm sans la queue, pour un poids de 8 à 17 g. Elle est présente dans une grande partie de l'Europe (Hutterer *et al.*, 2016), y compris dans les Pyrénées françaises où sa présence a été observée dans les mêmes cours d'eau que le desman des Pyrénées (Charbonnel *et al.*, 2015). La crossope aquatique semble en effet avoir des préférences d'habitat semblables à ce dernier. Elle peuple les cours d'eau au courant plutôt rapide dont les berges fournissent de nombreuses cavités qu'elle utilise également comme gîtes (Greenwood *et al.*, 2002 ; Keckel *et al.*, 2014). Son régime alimentaire est opportuniste et contient à la fois des proies terrestres (e.g. coléoptères, gastéropodes, araignées, vers de terre) et des proies aquatiques (e.g. larves d'insectes et crustacés ; Churchfield, 1985 ; Castién & Gosálbez, 1999 ; Haberl, 2002 ; Churchfield & Rychlik, 2006). Enfin, son rythme d'activité est polyphasique, comme celui du desman des Pyrénées, et les phases d'activité nocturnes et diurnes varient au cours des saisons (Churchfield, 1984a ; Rychlik, 2000 ; Greenwood *et al.*, 2002 ; Keckel *et al.*, 2014). En dépit de ces similarités en termes d'habitats, de ressources alimentaires et de modes de vie, peu d'études se sont intéressées aux

interactions entre le desman des Pyrénées et la crossope aquatique. Parmi elles, la comparaison des régimes alimentaires et un éventuel recouvrement trophique entre les deux espèces ont été étudiés par Santamarina (1993) et Castién & Gosálbez (1999). En se limitant à quelques échantillons et en utilisant des techniques d'identification visuelle des proies, ces études ont conclu que la coexistence entre les deux espèces et la différenciation de leur régime alimentaire résultaient probablement d'une utilisation différente de l'habitat à une échelle très fine. Toutefois, ces premières observations méritent d'être confirmées en appliquant les outils génétiques récemment développés pour l'identification des proies à un jeu de données plus conséquent.

❖ Prédateurs

Il est important de connaître l'influence des prédateurs pour la conservation d'espèces vulnérables et le rétablissement de leurs populations (Mate *et al.*, 2015). Les connaissances sur les prédateurs du desman des Pyrénées sont encore limitées à ce jour alors que par exemple, une augmentation des densités de populations de ses prédateurs pourrait entraîner une pression de prédation accrue, peut-être à l'origine de son déclin (e.g. chez des amphibiens : Parry *et al.*, 2015), voire même de l'extinction de certaines populations localisées. Quelques études ponctuelles ont confirmé la présence de restes de desman des Pyrénées dans le régime alimentaire de la loutre d'Europe (*Lutra lutra* ; Callejo & Delibes, 1987 ; Fernández-López *et al.*, 2014), une espèce native actuellement en phase de recolonisation en France et dans les Pyrénées (Kuhn, 2009), ainsi que dans celui du vison d'Amérique (Romero, 2015 ; Figure 1-9). D'autres prédateurs potentiels comme par exemple certains rapaces (i.e. buse variable *Buteo buteo* ; chouette hulotte *Strix aluco* ; chouette effraie *Tyto alba*), sont également cités mais les observations sont généralement anecdotiques (Némoz & Bertrand, 2008).

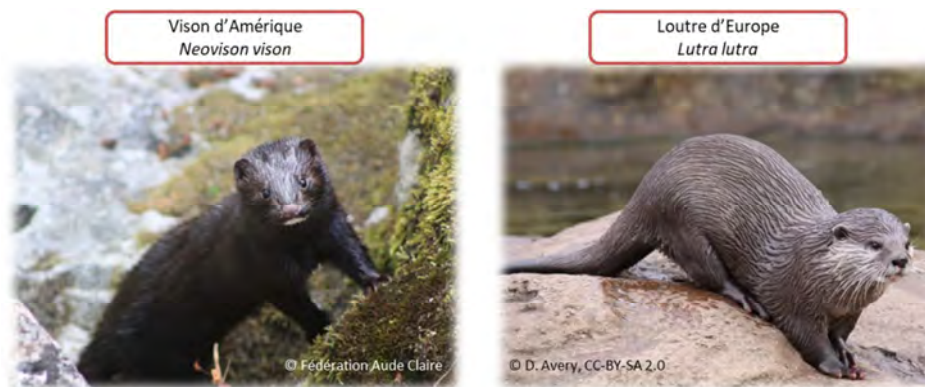


Figure 1-9 : Vison d'Amérique et loutre d'Europe, deux carnivores semi-aquatiques prédateurs du desman des Pyrénées.

La présence du vison d'Amérique dans les Pyrénées résulte d'évasion volontaire ou fortuite d'animaux provenant de fermes d'élevage pour la fourrure installées en France dès les années 1920 (Léger & Ruet, 2005). Dans les années 1980-1990, trois populations férales de vison d'Amérique ont été recensées en France dont une qui s'est rapidement développée dans le réseau hydrographique de l'Adour (i.e. Hautes-Pyrénées, Pyrénées-Atlantiques, Gers et Landes). Le vison d'Amérique est aujourd'hui considéré comme espèce invasive dans toute l'Europe où son impact sur les communautés natives est déjà largement reconnu (e.g. Banks *et al.*, 2004 ; Brzeziński *et al.*, 2010 ; Melero *et al.*, 2012b ; Põdra *et al.*, 2013 ; García-Díaz *et al.*, 2013). Bien qu'aucune étude n'ait à ce jour ciblé directement cette question, la responsabilité potentielle du vison d'Amérique sur le déclin des populations de desman des Pyrénées a été largement évoquée (e.g. Pedrosa & Chora, 2014 ; Charbonnel *et al.*, 2016). L'élimination de cette menace fait actuellement partie des objectifs du projet LIFE+ Desmania en Espagne (pour plus de détails, voir le site internet du projet : <http://www.lifedesman.es>). Une meilleure connaissance de l'intensité de prédation de ces deux carnivores semi-aquatiques, mais également d'autres espèces potentiellement prédatrices, sur le desman des Pyrénées s'avère donc primordiale pour assurer une conservation optimale de l'espèce.

1.4. OBJECTIFS ET STRUCTURE DU MANUSCRIT

Ce travail de recherche fait suite à celui d'Anaïs Charbonnel (Charbonnel, 2015) et vise à améliorer les connaissances concernant l'influence de facteurs abiotiques et biotiques qui n'ont été encore que peu étudiés sur le desman des Pyrénées. L'objectif principal est donc d'identifier de nouveaux facteurs qui pourraient jouer un rôle sur la distribution du desman des Pyrénées, et finalement de mieux comprendre les raisons de la contraction de son aire de répartition.

Ce manuscrit est organisé autour de cinq axes de recherche dont les résultats sont présentés sous forme d'articles scientifiques acceptés, soumis ou en préparation (chapitres 3 à 6 rédigés en anglais et précédés d'un résumé en français) et d'une étude préliminaire (chapitre 7) :

- (i) le **chapitre 3** s'intéresse à des facteurs abiotiques (e.g. chimie de l'eau, perturbations du lit mineur) et biotiques (e.g. compétiteurs) dont l'influence sur la distribution locale du desman des Pyrénées n'a jamais été évaluée ;
- (ii) le **chapitre 4** décrit le régime alimentaire du desman des Pyrénées dans les Pyrénées françaises en appliquant des outils récents de génétique moléculaire pour l'identification des proies dans les fèces ;

- (iii) le **chapitre 5** étudie un éventuel recouvrement trophique entre le desman des Pyrénées et la crossope aquatique dans le département de l'Ariège. Les régimes alimentaires de ces deux mammifères sont comparés à l'aide d'outils génétiques d'identification des proies. Ils sont également comparés aux communautés d'invertébrés présentes dans les cours d'eau pour évaluer la sélectivité trophique des deux mammifères ;
- (iv) le **chapitre 6** explore le recouvrement spatial des habitats de chasse du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique. La combinaison (i) des outils génétiques d'identification des proies, (ii) de l'échantillonnage des invertébrés présents dans les cours d'eau et (iii) de la description des traits écologiques des proies permet d'identifier et de comparer les habitats de chasse des deux espèces à une échelle très fine, et d'évaluer une potentielle sélectivité pour ces habitats ;
- (v) le **chapitre 7** constitue une première évaluation de l'influence de la loutre d'Europe et du vison d'Amérique sur le desman des Pyrénées en France à deux niveaux : (i) l'expansion récente de leur aire de distribution dans les Pyrénées françaises et (ii) leur pression de prédation.

Préalablement à ces chapitres, le **chapitre 2** décrit la zone d'étude, les données et les protocoles de terrain et de laboratoire qui ont été mis en œuvre au cours de mes trois années de thèse.

Enfin, le **chapitre 8** synthétise et discute de l'ensemble des résultats afin de proposer de nouvelles perspectives d'études mais également des mesures de gestion pour la conservation du desman des Pyrénées qui pourraient être mises en place au regard de ces résultats.

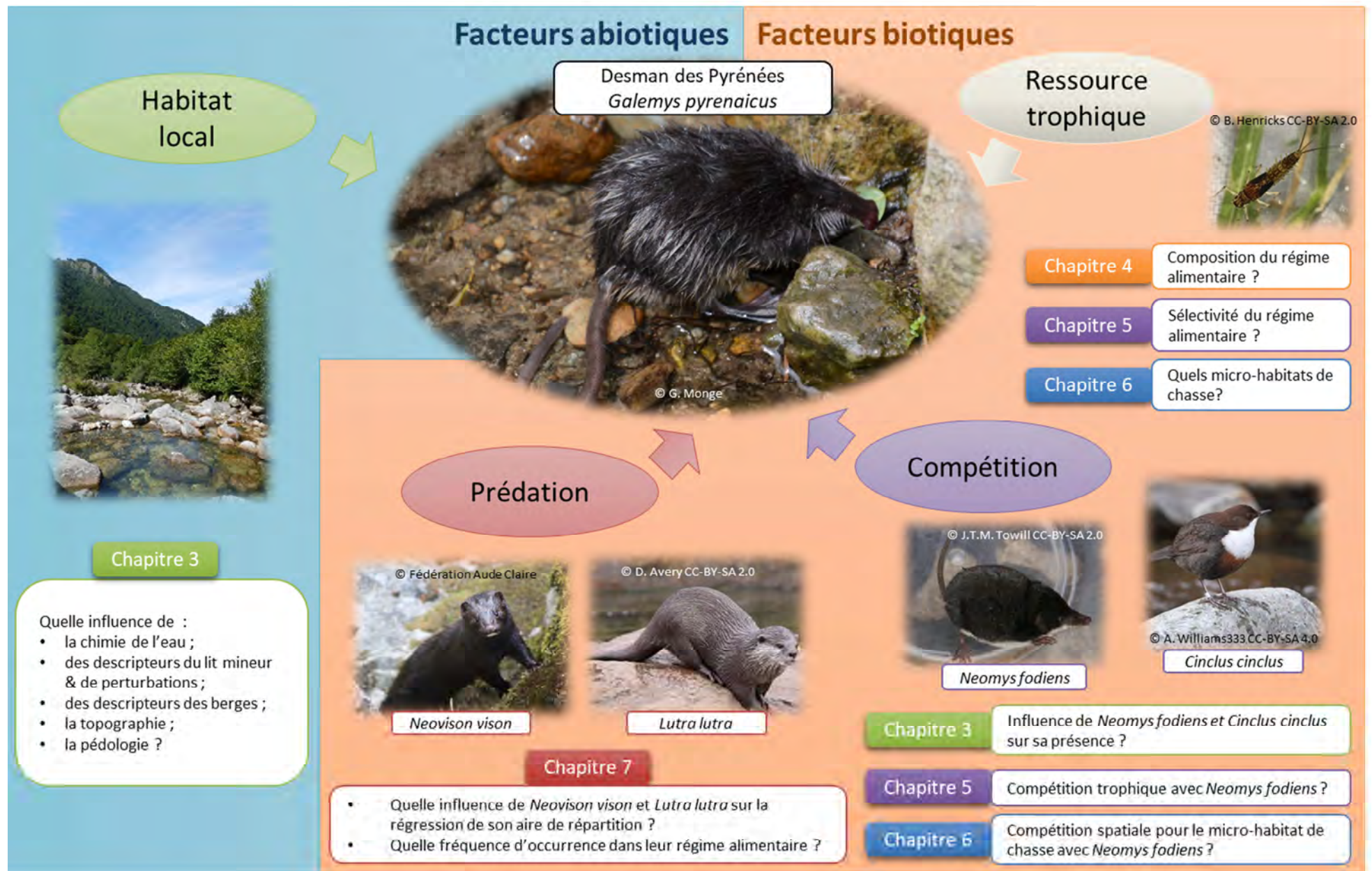


Figure 1-10 : Représentation schématique des questions et de l'organisation du mémoire de thèse.

CHAPITRE 2.

Matériels et méthodes

2.1. ZONE D'ETUDE

L'influence des facteurs biotiques et abiotiques sur le desman des Pyrénées a été étudiée à l'échelle des Pyrénées françaises ainsi qu'à l'échelle plus locale de bassins versants du département de l'Ariège.

2.1.1. Les Pyrénées françaises

La chaîne des Pyrénées s'étend sur environ 400 km de large depuis l'océan Atlantique à l'ouest jusqu'à la mer Méditerranée à l'est. Elle forme une frontière naturelle entre la France et l'Espagne. Le versant nord de ces montagnes, qui constitue la partie française des Pyrénées, couvre une surface de près de 24 000 km² et culmine à 3298 m d'altitude (i.e. massif du Vignemale, Hautes-Pyrénées ; Figure 2-1).

Le réseau de cours d'eau des Pyrénées françaises est dense et varié depuis les ruisseaux intermittents de haute montagne jusqu'à des fleuves plus larges, qui finiront leur course dans l'océan Atlantique (e.g. Adour, Garonne) ou la mer Méditerranée (e.g. Aude). Il peut être divisé en trois grandes régions hydrographiques qui diffèrent en termes de conditions environnementales. A l'ouest (≈ 9400 km²), les Pyrénées occidentales regroupent l'ensemble des cours d'eau qui coulent vers l'océan Atlantique et incluent le bassin versant de l'Adour et ceux des autres fleuves côtiers atlantiques. Au centre (≈ 7700 km²), les Pyrénées centrales voient s'écouler les cours d'eau continentaux de la partie amont du bassin versant de la Garonne, y compris l'Ariège. Enfin à l'est (≈ 6800 km²), les Pyrénées orientales regroupent les fleuves qui se jettent dans la mer Méditerranée, incluant notamment les bassins versants de l'Aude, du Tech et de la Têt. L'altitude moyenne est de 653 ± 643 m pour la région ouest, 978 ± 634 m pour la région centrale et 738 ± 670 m pour la région est (Figure 2-1).

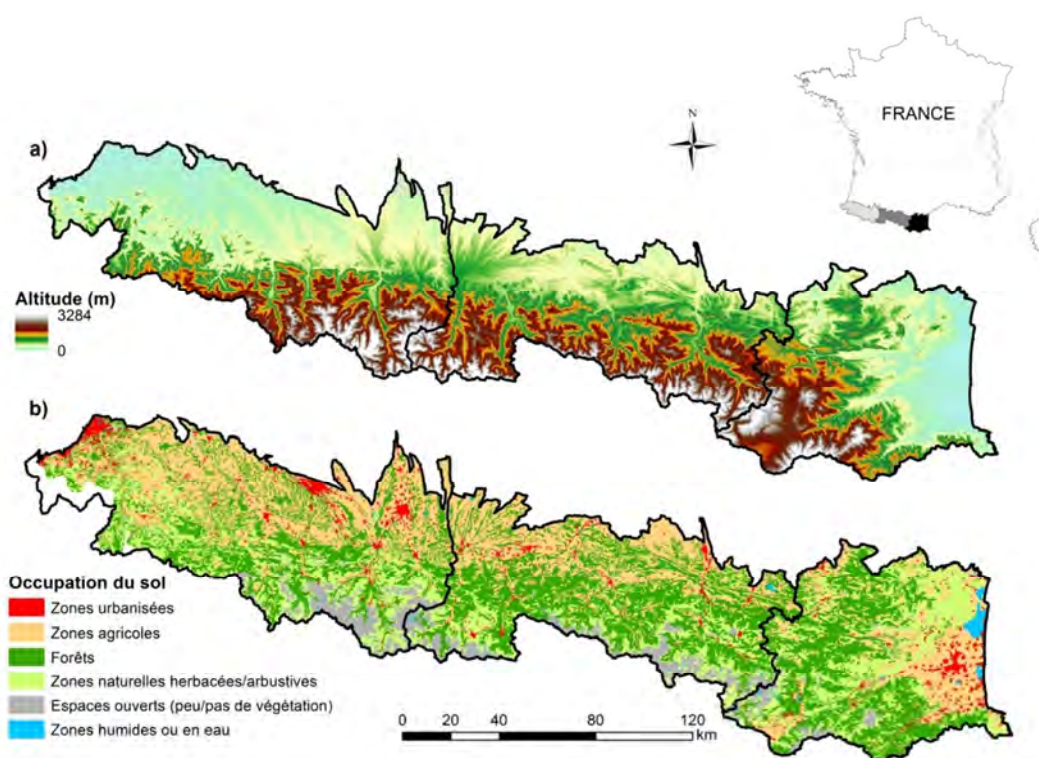


Figure 2-1 : (a) Altitude (IGN © BD ALTI) et (b) occupation du sol (©Union Européenne – SoeS, Corine Land Cover, 2006) dans les trois régions hydrographiques des Pyrénées françaises.

Les Pyrénées occidentales, centrales et orientales sont respectivement sous influence climatique océanique, continentale et méditerranéenne, avec des différences marquées en termes de température et de précipitations moyennes annuelles (Table 2-1). Les cours d'eau pyrénéens bénéficient ainsi d'un régime nival à pluvio-nival. Ils sont principalement alimentés par les précipitations automnales et printanières ainsi que la fonte printanière des neiges.

Table 2-1 : Températures et précipitations dans les trois zones hydrographiques des Pyrénées françaises (Météo-France ©SAFRAN BD).

Zones hydrographiques	Température annuelle moyenne	Précipitations moyennes annuelles
Pyrénées occidentales (ouest)	$11.3 \pm 2.8^{\circ}\text{C}$	$1274 \pm 241 \text{ mm}$
Pyrénées centrales (centre)	$9.9 \pm 2.7^{\circ}\text{C}$	$1060 \pm 224 \text{ mm}$
Pyrénées orientales (est)	$11.7 \pm 3.4^{\circ}\text{C}$	$807 \pm 175 \text{ mm}$

Sur l'ensemble de la chaîne pyrénéenne, l'occupation du sol est dominée par les terres agricoles et les forêts, à l'exception des Pyrénées orientales où les zones naturelles de végétation herbacée et arbustive sont également très présentes (Figure 2-1). La présence humaine est plutôt concentrée au niveau des zones de piémont et des zones côtières. Sur l'ensemble des Pyrénées françaises, elle reste

limitée à une densité moyenne de 28.40 habitants/km² (© INSEE 2010). Les activités humaines sont cependant présentes jusqu'en amont des cours d'eau avec un important réseau d'aménagements hydrauliques, et notamment hydroélectriques, sur l'ensemble des Pyrénées françaises (e.g. barrages d'altitude, conduites forcées, centrales).

2.1.2. Le département de l'Ariège

La partie amont du département de l'Ariège a été choisie pour étudier le desman des Pyrénées à une échelle plus locale du fait de la forte présence de l'espèce dans cette région (Charbonnel *et al.*, 2015, 2016 ; Biffi *et al.*, 2016) et de la présence conjointe de la crossope aquatique récemment reportée (Charbonnel *et al.*, 2015).

Cette zone d'étude se situe dans les Pyrénées centrales et s'étend sur une superficie de 2885 km². Son réseau hydrographique est constitué de 3182 km de cours d'eau divisé en trois bassins versants (Figure 2-2): le haut bassin du Salat (1177 km²), le haut bassin de l'Arize (128 km²) et le haut bassin de l'Ariège (1580 km²). Ces trois principaux cours d'eau sont des affluents de la Garonne en rive droite dont les confluences avec cette dernière se trouvent à plusieurs dizaines de kilomètres en aval de la limite nord de la zone d'étude. Cette limite nord est délimitée par l'aire de répartition du desman des Pyrénées.

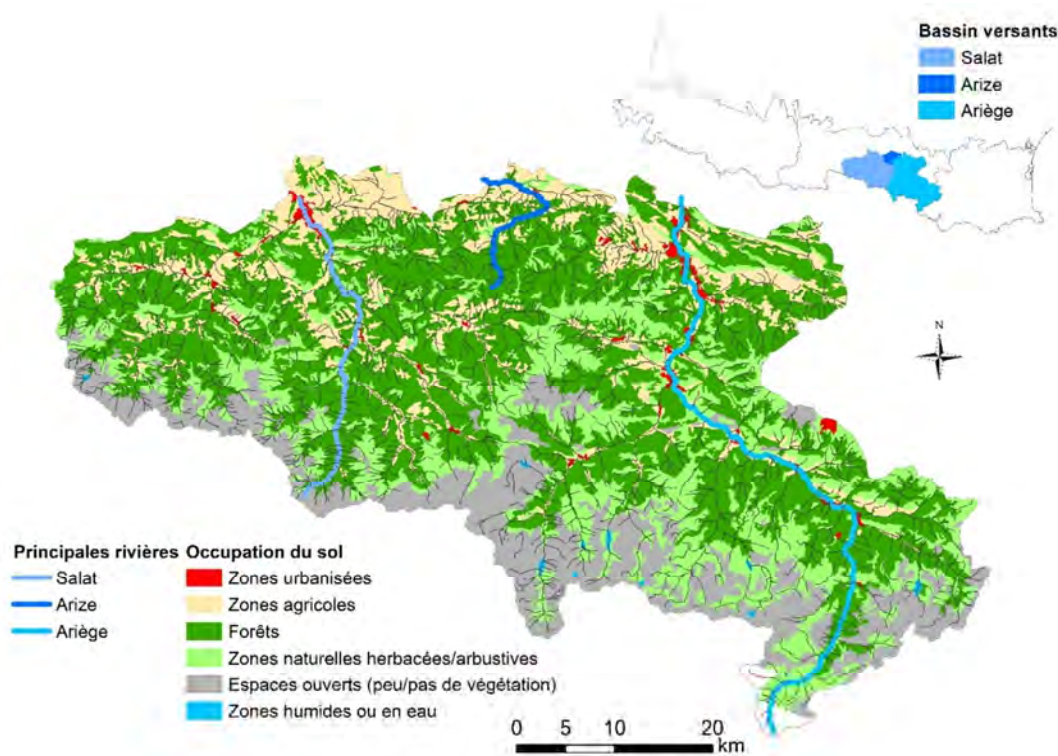


Figure 2-2 : Occupation du sol de la zone d'étude située dans le département de l'Ariège.

L'altitude moyenne de la zone d'étude est de 1277 m et varie entre 357 et 3143 m (Pic d'Estats, Massif du Montcalm). Dans cette région montagneuse, le climat est plutôt froid et humide avec une température moyenne annuelle de 8.7 ± 2.5 °C et des précipitations moyennes annuelles de 1209.4 ± 173.0 mm. Représentative des Pyrénées centrales, plus de la moitié de la zone d'étude est couverte de zones naturelles ou semi-naturelles dont 45.1 % de zones forestières et 23.5 % de zones de végétation de type herbacée/arbustive. Seule 1.1 % de la surface de la zone d'étude est urbanisée et 13.6 % de sa surface est couverte de terres agricoles (Figure 2-2).

2.2. COLLECTE DES INDICES DE PRESENCE DU DESMAN DES PYRENEES ET DE LA CROSSOPE AQUATIQUE

2.2.1. Pourquoi utiliser des indices indirects de présence ?

Le desman des Pyrénées et la crossope aquatique sont des espèces discrètes, de petite taille et dont l'activité est plutôt nocturne (Lardet, 1988 ; Melero *et al.*, 2014). Ainsi, leur étude est contrainte par les difficultés d'observation et de capture. Cette limite est d'autant plus importante du fait de l'accès parfois difficile aux cours d'eau de montagne, notamment dans les zones les plus hautes des

Pyrénées. Pour pallier ces difficultés, la méthode d'échantillonnage la plus simple consiste, comme pour beaucoup d'espèces cryptiques, à collecter leurs fèces qui servent d'indices indirects de présence. Les fèces de desman des Pyrénées et de crossope aquatique sont généralement déposées sur les éléments émergés du lit mineur ou des berges des cours d'eau. En plus d'informer sur la répartition des espèces, les fèces sont une véritable mine d'informations sur leur écologie trophique, puisqu'elles contiennent des restes alimentaires qui peuvent être identifiés *a posteriori* en laboratoire. La collecte de fèces est une méthode approuvée et reconnue pour son efficacité dans la détection du desman des Pyrénées (Aymerich, 2004 ; Némot & Bertrand, 2008 ; Charbonnel *et al.*, 2014). Elle a également fait ses preuves pour l'étude de la crossope aquatique (Aymerich & Gosálbez, 2004).

2.2.2. Protocole de prospection

Les prospections de fèces de desman des Pyrénées et de crossope aquatique sont réalisées en période de basses eaux, le plus souvent lors de la période d'étiage d'été, afin (i) de faciliter le parcours des cours d'eau qui présentent à cette période des niveaux plus bas et des débits plus réduits, et (ii) de maximiser le nombre de surfaces émergées. Les périodes pendant ou suivant d'éventuelles fluctuations du niveau d'eau (e.g. fortes pluies, lâchers depuis un ouvrage hydraulique), qui peuvent lessiver et dégrader les fèces et donc réduire leur chance de détection, sont exclues.

Durant chaque prospection, l'ensemble des éléments émergés (i.e. blocs rocheux, racines, branches) présents dans le lit mineur ou en bordure de berges est méticuleusement inspecté à la recherche de fèces du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique (Figure 2-3a). Les fèces de desman des Pyrénées sont reconnaissables à leur forme (i.e. petites grappes), leur couleur (i.e. généralement marron foncé), leur position dans la rivière (i.e. proches de la surface de l'eau) et plus particulièrement leur odeur (i.e. fruits de mer ; Figure 2-3b). Les fèces de crossope aquatique sont plus petites et distinguables des fèces des autres musaraignes terrestres uniquement lorsqu'elles sont déposées au milieu des cours d'eau (Figure 2-3c).

Les fèces supposées appartenir aux deux mammifères sont comptées sur le terrain, collectées et placées dans des tubes de 2 ml remplis d'éthanol à 70 % (Figure 2-3d), puis conservées au congélateur individuellement en attente d'être analysées au laboratoire.



Figure 2-3 : Prospections dans les cours d'eau de l'Ariège. a) Recherche des fèces sur tous les éléments émergés. b) Fèces de desman des Pyrénées. c) Fèces de crossope aquatique. d) Collecte des fèces détectées.

2.2.3. Caractéristiques des différents échantillonnages

2.2.3.1. Echelle des Pyrénées

2.2.3.1.1. Données historiques 1985-1990

Les données de distribution historique du desman des Pyrénées utilisées dans le chapitre 7 sont issues du travail de recherche d'Alain Bertrand (Bertrand, 1994) et d'un échantillonnage réalisé entre 1985 et 1990 sur l'ensemble des Pyrénées françaises. Ces dernières avaient été divisées en mailles régulières de 10 x 14 km au sein de chacune desquelles deux à six sites avaient été prospectés. Un total de 718 sites (Figure 2-4) répartis dans 232 mailles avait ainsi été échantillonné une seule fois à la recherche de fèces de desman des Pyrénées. Le protocole d'échantillonnage décrit précédemment (§2.2.2) avait été mis en œuvre sur des tronçons de cours d'eau d'une longueur maximale de 500 m de long, qui correspond à la taille du domaine vital de l'espèce (Melero *et al.*, 2012a, 2014). La prospection était interrompue dès la découverte d'une première fèces.

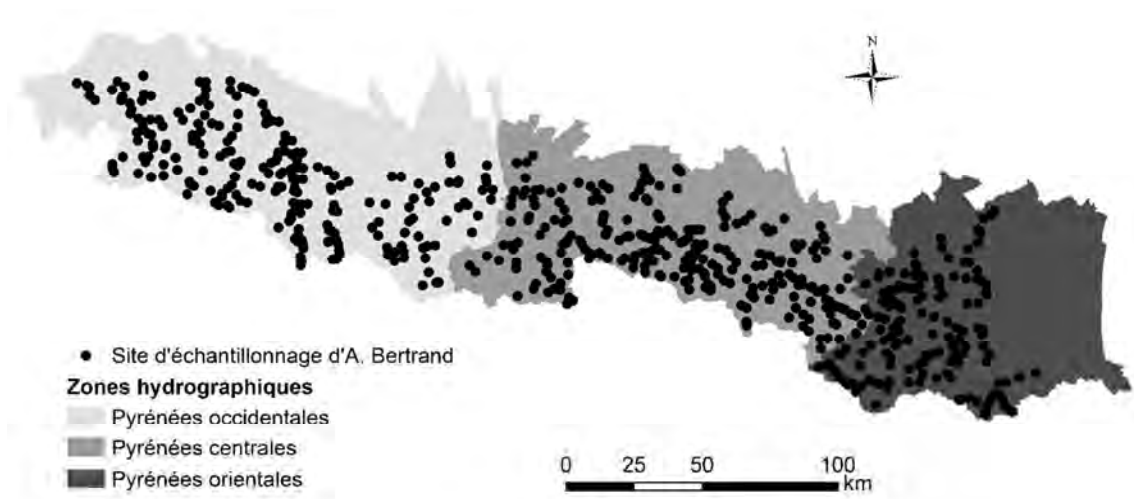


Figure 2-4 : Localisation des 718 sites prospectés dans le cadre de l'étude de (Bertrand, 1994) entre 1985 et 1990 à la recherche de fèces de desman des Pyrénées.

2.2.3.1.2. Données actuelles 2011-2013

Les données de répartition du desman des Pyrénées utilisées dans les chapitres 4 et 7 ont été récemment actualisées en France dans le cadre du PNAD (Némoz & Bertrand, 2008 ; Charbonnel, 2015). Des prospections de fèces suivant le protocole du §2.2.2 ont été conduites au sein de l'aire de répartition historique du desman des Pyrénées en France entre 2011 et 2013, majoritairement entre juin et septembre mais aussi ponctuellement à d'autres saisons. Au total, 1330 tronçons de cours d'eau de 500 m de long sélectionnés suivant un échantillonnage aléatoire stratifié (GRTS ; Stevens & Olson, 2004) ont été échantillonnés une seule fois pendant cette période (Figure 2-5).

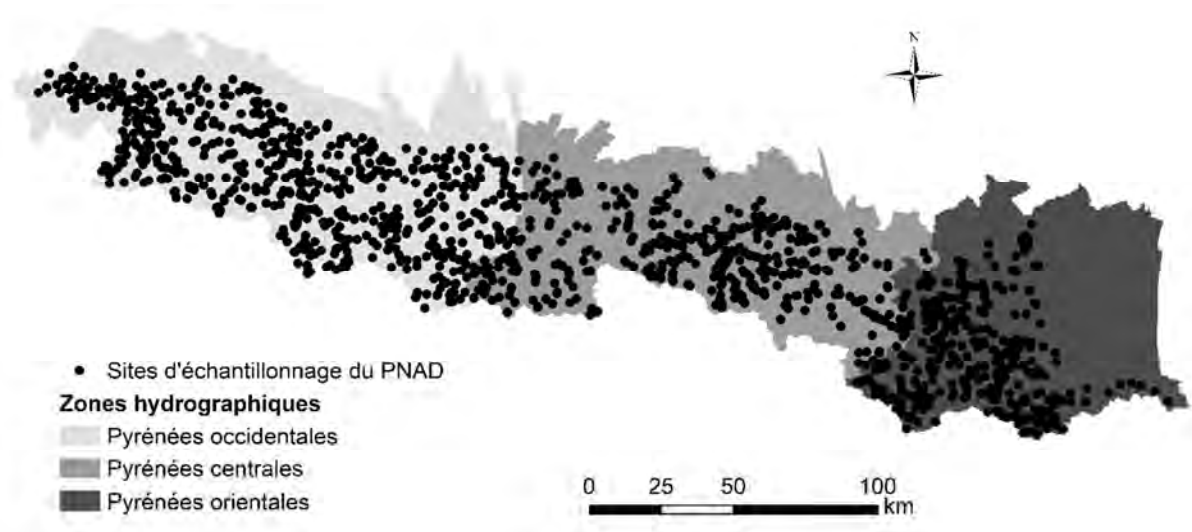


Figure 2-5 : Localisation des 1330 sites prospectés dans les Pyrénées entre 2011 et 2013 dans le cadre du PNA en faveur du desman des Pyrénées (Némoz & Bertrand, 2008 ; Charbonnel, 2015).

2.2.3.2. Echelle du département de l'Ariège – Données 2015

A l'échelle du département de l'Ariège, 65 sites d'échantillonnage (Figure 2-6) ont été choisis parmi des sites (i) déjà prospectés entre 2011 et 2013 dans le cadre du PNAD (59 sites ; cf. § 2.2.3.1.2), (ii) suivis depuis 2014 dans le cadre du projet LIFE + en faveur du desman des Pyrénées (2 sites), ou (iii) prospectés en dehors de ces programmes par l'Association des Naturalistes d'Ariège (ANA) mais permettant d'obtenir une couverture spatiale satisfaisante de la zone (4 sites). Le choix des sites de prospection devait permettre d'assurer, en premier lieu, la détection d'un nombre suffisant de fèces de desman des Pyrénées, plus rare que la crossope aquatique en Ariège (V. Lacaze, ANA, comm. pers.), afin de pouvoir étudier son régime alimentaire. Parallèlement, ce choix devait aussi optimiser le temps de prospection en sélectionnant des sites connus et relativement faciles d'accès.

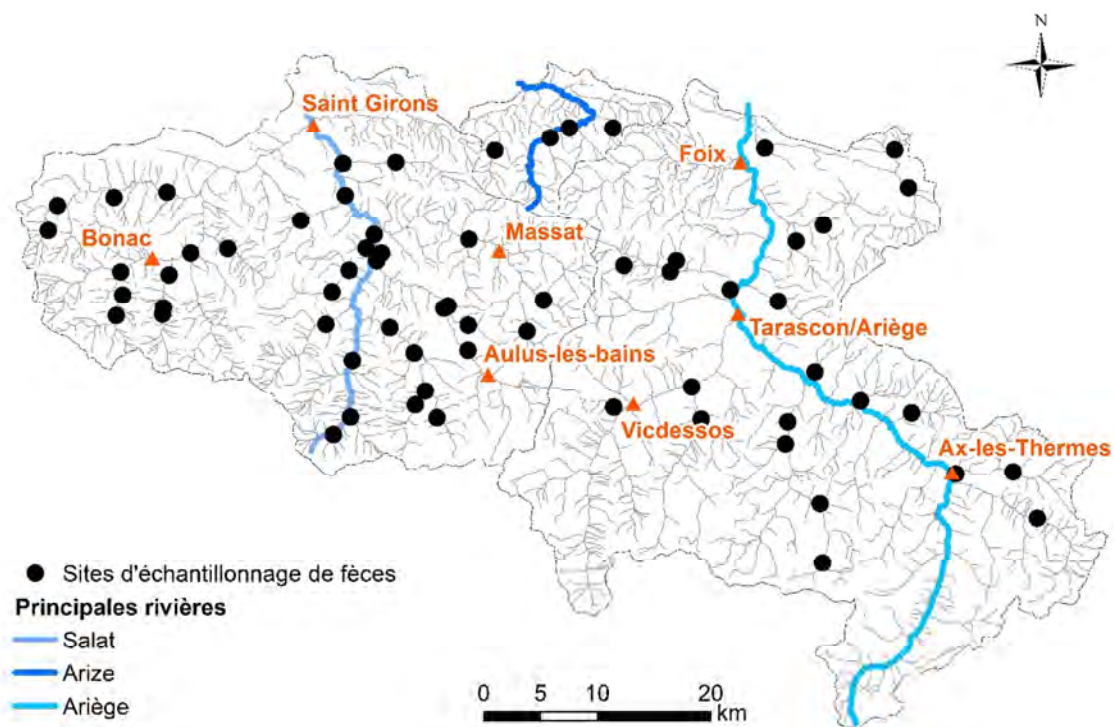


Figure 2-6 : Localisation des 65 sites d'échantillonnage prospectés en Ariège en 2015 à la recherche de fèces de desman des Pyrénées et de crossope aquatique.

Chaque site prospecté correspondait à un linéaire de rivière de 250 m. Cette longueur représente un compromis entre la taille du domaine vital et la distance parcourue le long des rivières par le desman des Pyrénées et la crossope aquatique pendant 24 heures (Table 2-2).

Table 2-2 : Taille des domaines vitaux et distance moyenne parcourue pour le desman des Pyrénées et la crossope aquatique.

Espèce	Domaine vital	Distance journalière moyenne parcourue le long du cours d'eau	Sources
Desman des Pyrénées	≈ 500 m de linéaire de cours d'eau	≈ 250 m entre les gîtes	(Melero <i>et al.</i> , 2012a, 2014)
Crossope aquatique	106 à 509 m ² , étroit et linéaire le long des rivières	49 ± 25 m	(Lardet, 1988 ; Cantoni, 1993)

Pour chacun des sites, la collecte de fèces a été conduite à deux reprises entre juin et septembre 2015 lors de la période estivale d'étiage. Les conditions d'échantillonnages étaient optimales (cf. §2.2.2) et similaires entre chaque site et entre les deux passages. J'ai réalisé l'ensemble des prospections en binôme afin de limiter le biais potentiel dû à l'observateur.

La répétition temporelle de l'échantillonnage a été choisie de façon à optimiser la détection des deux espèces d'intérêt dans la limite des moyens mis à disposition. Parry *et al.* (2013) ont en effet trouvé que la loutre d'Europe était mieux détectée en effectuant des visites répétées sur un même site plutôt qu'une seule visite sur un site de plus grande taille. Charbonnel *et al.* (2014) ont mis en évidence des probabilités de détection plutôt élevées (0.58) pour le desman des Pyrénées en prospectant plusieurs fois un linéaire de cours d'eau de 100 m de long. Aymerich & Gosálbez (2014) ont quant à eux montré que prospecter des tronçons de 200 m de long était suffisant pour détecter le desman des Pyrénées. En effet, la prospection de 25 m de cours d'eau leur permettait déjà de détecter une première fèces de desman des Pyrénées pour plus de la moitié des tronçons échantillonnés.

2.2.3.3. Bilan des trois échantillonnages

Les spécificités des trois échantillonnages de fèces du desman des Pyrénées dont les données sont utilisées dans ce manuscrit sont synthétisées dans la Table 2-3.

Table 2-3 : Bilan des trois échantillonnages de fèces du desman des Pyrénées effectués dans le cadre des travaux d'A. Bertrand (Bertrand, 1994), du PNAD (Némoz & Bertrand, 2008 ; Charbonnel, 2015) et des prospections spécifiques à ce travail de thèse dans le département de l'Ariège.

Echelle d'étude	Période d'échantillonnage	Nombre de sites	Longueur de tronçon	Nombre de passage	Espèce(s) ciblée(s)
Pyrénées	1985-1990	718	Maximum 500 m	1	Desman des Pyrénées
	2011-2013	1330	500 m	1	
Ariège	2015	65	250 m	2	Desman des Pyrénées & Crossope aquatique

2.3. ANALYSES GENETIQUES DES FECES COLLECTEES

2.3.1. Pourquoi une validation génétique est-elle nécessaire ?

Bien que les fèces fraîches du desman des Pyrénées soient particulièrement reconnaissables, un doute subsiste lors de la collecte de fèces plus anciennes ou dégradées. Elles peuvent par exemple être confondues avec des pelotes de réjection dégradées de cincle plongeur ou des fèces d'autres espèces d'oiseaux ou de micromammifères qui vivent dans les mêmes milieux (Figure 2-7). Les fèces de crossope aquatique sont quant à elles indiscernables à l'œil nu des fèces d'autres musaraignes terrestres exploitant les zones ripariennes (Figure 2-7).

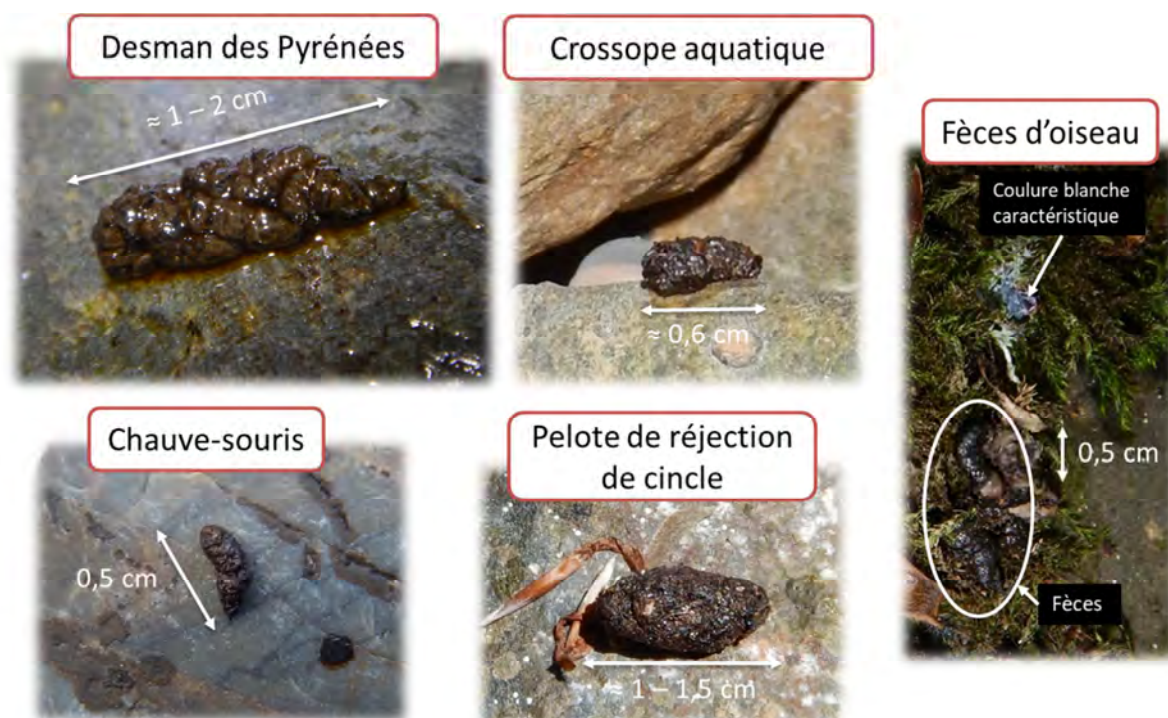


Figure 2-7 : Indices de présence d'espèces utilisant les mêmes milieux que le desman des Pyrénées et la crossope aquatique.

Afin de pallier cette difficulté, les techniques récentes de génétique moléculaire (Pompanon *et al.*, 2012) permettent de confirmer l'auteur des fèces, si l'ADN n'est pas trop dégradé, tout en apportant également des informations sur les proies qu'elles contiennent.

Les outils moléculaires permettant de différencier avec certitude le desman des Pyrénées et la crossope aquatique d'autres espèces ont été développés au sein de l'équipe de Johan Michaux du laboratoire de Génétique de la Conservation à l'Université de Liège (ULg) en Belgique, dans le cadre

de la thèse de François Gillet, et en partenariat avec le CEN Midi-Pyrénées (Gillet, 2015 ; Gillet *et al.*, 2015).

2.3.2. Le gène mitochondrial COI

Le gène d'intérêt qui permet d'identifier l'auteur des fèces et les espèces proies qu'elles contiennent, est un gène mitochondrial qui code pour la première sous-unité d'une protéine intervenant dans la respiration de la mitochondrie : le cytochrome oxydase (COI). Le gène COI a l'avantage (i) d'être présent en de nombreuses copies dans le génome facilitant ainsi le séquençage, (ii) de présenter une variabilité intéressante pour différencier les espèces, et (iii) de faire l'objet d'un projet international (Barcode of Life, www.barcoding.si.edu) à l'origine d'une base de données en ligne ayant pour but d'identifier la grande majorité des espèces du règne animal à partir de ce gène (Gillet, 2015).

2.3.3. Protocole de laboratoire et traitement bio-informatique

Les analyses génétiques des fèces se déroulent en plusieurs grandes étapes décrites ci-après (pour plus de détails voir : Gillet, 2015 ; Gillet *et al.*, 2015 ; André *et al.*, 2017).

2.3.3.1. Extraction de l'ADN contenu dans les fèces

L'extraction de l'ADN a été réalisée dans une salle « blanche » à accès réglementé spécialement équipée pour traiter des échantillons contenant peu d'ADN (ADN rare) ou de l'ADN dégradé, comme c'est le cas pour les fèces. Cette salle contient une chambre de désinfection par rayonnement ultra-violet qui assure la bonne stérilisation de tout l'équipement utilisé.

L'ADN a été extrait des fèces avec le kit d'extraction QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen Inc., Hilden, Allemagne) en suivant les instructions du fabricant. Des blancs d'extraction ont été réalisés pour contrôler le processus.

2.3.3.2. Amplification par PCR du gène COI

L'étape d'amplification de l'ADN consiste à copier le fragment d'intérêt de 133 paires de bases du gène mitochondrial COI en plusieurs milliers voire millions d'exemplaires par PCR (Polymerase Chain

Reaction). Pour cela, des amorces modifiées et adaptées pour reconnaître le fragment du gène COI d'intérêt ont été utilisées¹ :

- 5'-CCATCTCATCCCTGCGTGT-CTCCGACTCAGNNNNNNNATTCHACDAAYCAYAA RGAYATYGG-3'
(amorce sens ou « forward » LepF1 modifiée ; Gillet *et al.*, 2015) ;
- 5'-CCTCTCTATGGGCAGTCGGTGATNNNNNNNACTAT-AAAAAAAATYTDAYAAA DGCRTG-3'
(amorce anti-sens ou « reverse » EPT-long-univR modifiée ; Gillet *et al.*, 2015).

Ces amorces ont été associées à de courtes séquences de sept paires de bases appelées « tags » afin de pouvoir identifier de façon fiable et individuelle l'origine (i.e. l'échantillon de provenance) des fragments du gène COI amplifiés. Des blancs de PCR ont également été inclus pour contrôler le processus.

Une première PCR (PCR1) a été réalisée pour chaque échantillon sur un volume final de 25 µL contenant :

- 12.25 µL d'eau pure stérile ;
- 0.75 µL de DNTP à 10 mM (mélange des quatre désoxyribonucléotides composant l'ADN qui servent de synthèse pour créer les nouvelles copies du gène COI) ;
- 5 µL de 5x KAPA HiFi buffer ;
- 0.75 µL d'amorce « forward » ;
- 0.75 µL d'amorce « reverse » ;
- 0.5 µL de l'enzyme Taq-polymerase (1U/µl ; KAPABiosystems) ;
- 5 µL d'extrait d'ADN provenant des fèces.

L'amplification par PCR a ensuite été réalisée dans un thermocycleur avec une étape initiale de dénaturation de 3 min à 95 °C suivie de 38 cycles incluant chacun 30 s de dénaturation à 98 °C, 40 s d'hybridation à 48 °C et 30 s d'extension à 72 °C. L'amplification se termine par une étape finale d'extension de 10 min à 72 °C.

La totalité des produits de PCR a été ensuite purifiée en utilisant 20 µL de billes magnétiques Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter Life Sciences, IN, Etats-Unis) en suivant le protocole du fabricant, à l'exception de l'élution finale dans un volume de 27.5 µl de solution 10mM Tris PH 8.5 au lieu de 50 µl, afin de plus concentrer l'ADN.

¹ Les nucléotides N, H, Y et R sont des nucléotides dégénérés qui peuvent correspondre à plusieurs nucléotides de l'ADN. Par exemple, R peut correspondre aux nucléotides A ou G.

Une seconde PCR (PCR2) a été réalisée pour chaque échantillon afin de lier les séquences du gène COI aux tags permettant leur identification finale. Cette PCR2 a été réalisée sur un volume final de 50 μ L contenant :

- 23 μ L d'eau pure stérile ;
- 1.5 μ L de DNTP ;
- 10 μ L de 5x KAPA HiFi buffer ;
- 0.5 μ L de Taq-polymerase ;
- 2 \times 5 μ L de TAG (i.e. 2 tags utilisés par échantillon, tous les couples de tags utilisés sont strictement différents) ;
- 5 μ L de produits de PCR1 purifiés.

L'amplification a été réalisée dans le même thermocycleur avec une étape initiale de dénaturation de 3 min à 95 °C suivie de 8 cycles (30 s de dénaturation à 95 °C, 30 s d'hybridation à 55°C, 30 s d'extension à 72 °C) et une étape finale d'extension de 5 min à 72 °C.

Une seconde purification a été réalisée à partir de 45 μ L de produits de PCR2 et 50 μ L de billes magnétiques Agencourt AMPure XP. Les produits de seconde purification ont ensuite été quantifiés grâce au Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Assay Kit (Thermo Scientific, MA, Etats-Unis) en suivant le protocole du fabricant dans un lecteur à fluorescence (FilterMax F3, Molecular Devices). Cette étape de quantification permet de connaître la concentration en ADN contenu dans chaque échantillon.

2.3.3.3. Séquençage du gène COI

Après l'étape de quantification, les produits de PCR2 purifiés ont été combinés en respectant l'équimolarité (i.e. prélèvement d'une concentration égale d'ADN pour chaque échantillon fixée à 5 ng/ μ L) et envoyés à la plateforme de génomique GIGA de l'Université de Liège pour séquençage dans un séquenceur ILLUMINA MiSeq V2 benchtop sequencer. Le séquençage vise à déterminer la séquence nucléotidique des fragments d'ADN amplifiés.

Les séquences brutes obtenues ont ensuite été triées et filtrées pour éliminer les fragments d'ADN amplifiés indésirables afin de ne garder que les fragments du gène COI d'intérêt. Cette étape a été réalisée par Adrien André, doctorant à l'Université de Liège (voir André *et al.*, 2017 pour les détails du traitement bioinformatique).

2.3.3.4. Comparaison des séquences d'ADN avec les bases de données de référence

Toutes les séquences du gène mitochondrial COI obtenues ont ensuite été comparées aux séquences publiées dans la base de données BOLD (Ratnasingham & Hebert, 2007). Le pourcentage de similarité entre la séquence du gène COI à attribuer et les séquences de la base de données BOLD a permis de définir plusieurs critères d'attribution pour limiter les erreurs d'identification (J. Michaux, ULg, comm. pers.) :

- 1) Seules les correspondances supérieures à 80 % de similarité ont été retenues pour l'identification d'une proie à l'échelle du genre (ou à un niveau taxonomique supérieur) ou à 99 % pour l'identification de l'auteur des fèces à l'échelle de l'espèce ;
- 2) Si plusieurs taxons remplissaient ce critère, le taxon présentant la plus haute valeur de similarité a été retenu ;
- 3) En cas d'égalité de la similarité maximale entre plusieurs taxons différents, le premier niveau taxonomique commun supérieur était retenu.

La présence en France et dans les Pyrénées des taxons identifiés a ensuite été validée à l'aide des bases de données de l'Inventaire National du Patrimoine Naturel (INPN ; Muséum National d'Histoire Naturelle [Ed.], 2003-2017), de l'Office Pour les Insectes et leur Environnement (OPIE ; OPIE-Benthos, 2017) et de l'expertise de spécialistes des invertébrés du laboratoire EcoLab (F. Colas & J. Jabiol, post-doctorants ; S. Lamothe & A. Compin, ingénieurs d'étude). Les taxons identifiés comme endémiques d'autres régions du monde ainsi que les taxons vivant exclusivement dans le milieu marin ont été conservés pour les analyses du fait de leur probable similarité génétique avec des taxons présents dans les Pyrénées mais absents de la base de données BOLD. Les taxons susceptibles d'avoir fait l'objet d'une prédation indirecte au stade larvaire (e.g. parasites d'autres organismes consommés) et les larves d'invertébrés pouvant se développer sur les fèces (i.e. collectées avec les fèces mais n'ayant pas été directement consommées) ont également été conservés puisque le stade adulte de ces taxons pourrait faire l'objet d'une prédation active.

Les taxons provenant de contaminations survenues lors de la collecte des échantillons sur le terrain ou lors de leur traitement en laboratoire ont été exclus des analyses. Ils concernaient :

- des végétaux (notamment mousses et algues) sur lesquels les fèces ont probablement été prélevées ;
- des champignons et moisissures parfois présents sur les fèces récoltées ;
- des organismes planctoniques susceptibles d'avoir été ingérés indirectement ;

- un sanglier qui avait fait l'objet d'analyses génétiques menées dans les mêmes salles du laboratoire de Liège ;
- un taxon aberrant, le requin renard *Alopias sp.* ;
- des séquences d'*Homo sapiens* présentes dans moins de 5 % des échantillons analysés.

2.3.3.5. Identification de l'auteur des fèces

Du fait des fèces ciblées lors de l'échantillonnage, les vertébrés identifiés dans l'étape précédente ont été automatiquement considérés comme prédateurs auteurs des fèces. Certains échantillons n'ont cependant pas pu être attribués à un prédateur de manière fiable dans le cas où (i) aucun vertébré n'avait été identifié dans les fèces (i.e. ADN de proies uniquement), ou (ii) s'ils présentaient de l'ADN de plusieurs vertébrés différents. Ces fèces, ainsi que celles attribuées de manière fiable à d'autres prédateurs que le desman des Pyrénées ou la crossope aquatique, n'ont pas été retenues pour cette étude.

2.3.4. Bilan des analyses génétiques pour les deux échelles spatiales d'étude

2.3.4.1. Echelle des Pyrénées

Les fèces observées sur le terrain lors de l'échantillonnage historique d'A. Bertrand (Bertrand, 1994) n'ont pas fait l'objet d'analyses génétiques.

Par contre, les fèces collectées dans le cadre de l'échantillonnage 2011-2013 dans les Pyrénées ont été analysées génétiquement par François Gillet dans le cadre de sa thèse (Gillet, 2015). Dans les 1330 sites prospectés, 989 fèces susceptibles d'appartenir au desman des Pyrénées ont été collectées et analysées. Les extractions d'ADN ont échoué pour 429 fèces. Parmi les 560 échantillons restants, 390 fèces ont pu être attribuées au desman des Pyrénées tandis que les 170 autres fèces ont été produites par 25 autres espèces prédatrices (e.g. 7 oiseaux, 14 mammifères ; voir Gillet, 2015 pour plus de détails).

2.3.4.2. Echelle du département de l'Ariège

Pour les prospections réalisées en 2015 pour ce travail de thèse, l'auteur présumé des fèces collectées (i.e. desman des Pyrénées ou crossope aquatique) a été noté sur le terrain. Puis, un maximum de sept fèces par site prospecté et par espèce de mammifère a été sélectionné toutes

périodes d'échantillonnage confondues pour les analyses génétiques (n = 464). Une collaboration avec l'équipe de Johan Michaux m'a permis de me former aux techniques de génétique moléculaire et de réaliser moi-même les analyses des fèces que j'avais préalablement récoltées sur le terrain.

A l'issue de l'étape de séquençage, aucun des échantillons servant au contrôle (i.e. blancs d'extraction et de PCR) n'a produit de séquences d'ADN pouvant s'apparenter au gène COI, suggérant une contamination limitée des échantillons lors des manipulations en laboratoire. Les extractions et amplifications du gène COI ont échoué pour 11 échantillons sur les 464 analysés.

Sur les 453 échantillons pour lesquels des séquences de gène COI ont pu être extraites, 24 fèces pouvaient provenir de plusieurs prédateurs et 99 fèces ne contenaient que de l'ADN de proies (Figure 2-8). Un prédateur auteur des fèces unique et fiable a donc pu être identifié pour 330 échantillons. Parmi eux, 199 avaient été produits par le desman des Pyrénées (seulement 186 contenaient également de l'ADN de proies), 79 par la crossope aquatique (tous contenaient également de l'ADN de proies) et 52 par des prédateurs non ciblés (i.e. erreur d'identification visuelle des fèces lors des collectes). Ces derniers faisaient tous partie des prélèvements considérés « douteux » par les prospecteurs. Il s'agissait :

- de musaraignes : crossope de Miller (10 fèces), crocidure commune *Crocidura russula* (1 fèces), autres musaraignes *Sorex* sp. (5 fèces) ;
- de petits rongeurs : mulots *Apodemus* sp. (7 fèces), campagnols *Myodes* sp. (2 fèces), loir *Glis glis* (2 fèces), souris *Mus musculus* (4 fèces) ;
- de chauves-souris : barbastelle commune *Barbastella barbastellus* (1 fèces), pipistrelle commune *Pipistrellus pipistrellus* (6 fèces), autres *Myotis* sp. (4 fèces) ;
- d'oiseaux : geai des chênes *Garrulus glandarius* (1 fèces), fauvette à tête noire *Sylvia atricapilla* (1 fèces), merle noir *Turdus merula* (6 fèces), un passeriforme mal identifié car endémique d'Amérique du Sud *Pipreola* sp. (1 fèces) ;
- un carnivore : *Martes* sp. (1 fèces).

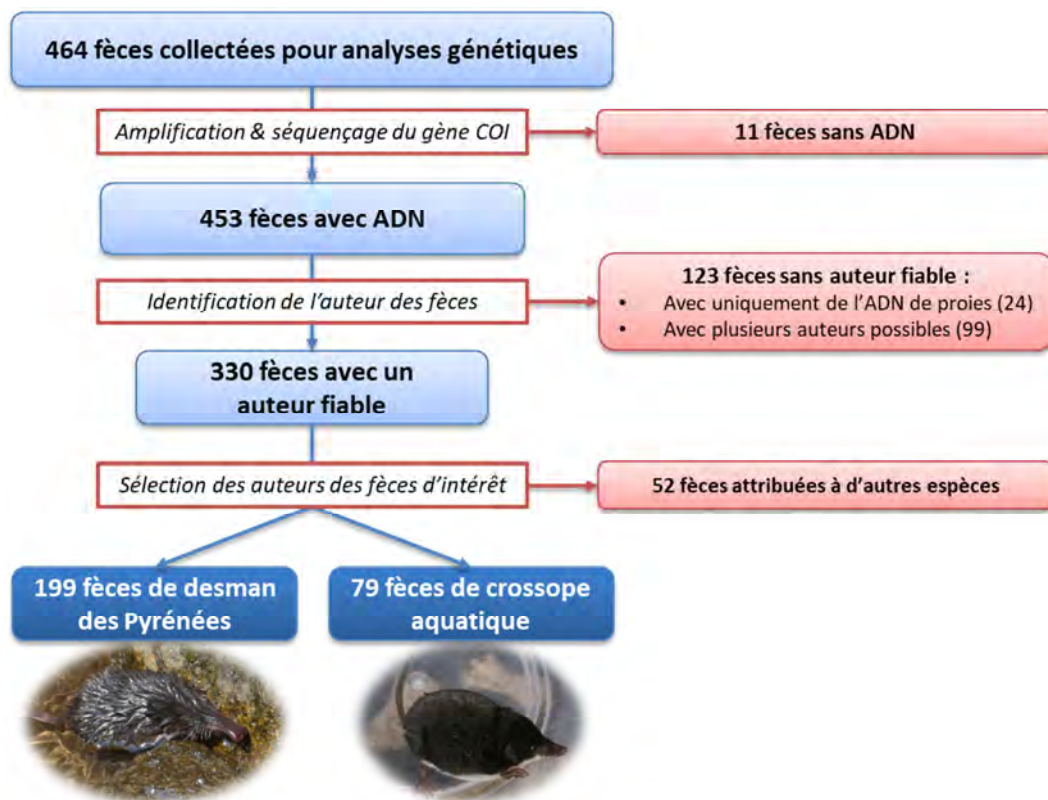


Figure 2-8 : Synthèse des données issues des analyses génétiques pour l'identification de l'auteur des 464 fèces collectées en Ariège en 2015.

2.4. ECHANTILLONNAGE DES MACROINVERTEBRES AQUATIQUES

2.4.1. Sites échantillonnés et période d'échantillonnage

Afin de pouvoir quantifier la disponibilité en proies potentielles dans le milieu aquatique pour le desman des Pyrénées et la crossope aquatique, les macroinvertébrés aquatiques ont été échantillonnés dans 31 des 65 sites prospectés dans le département de l'Ariège en 2015 (Figure 2-9). Des contraintes logistiques et météorologiques n'ont pas permis d'échantillonner l'ensemble des sites.

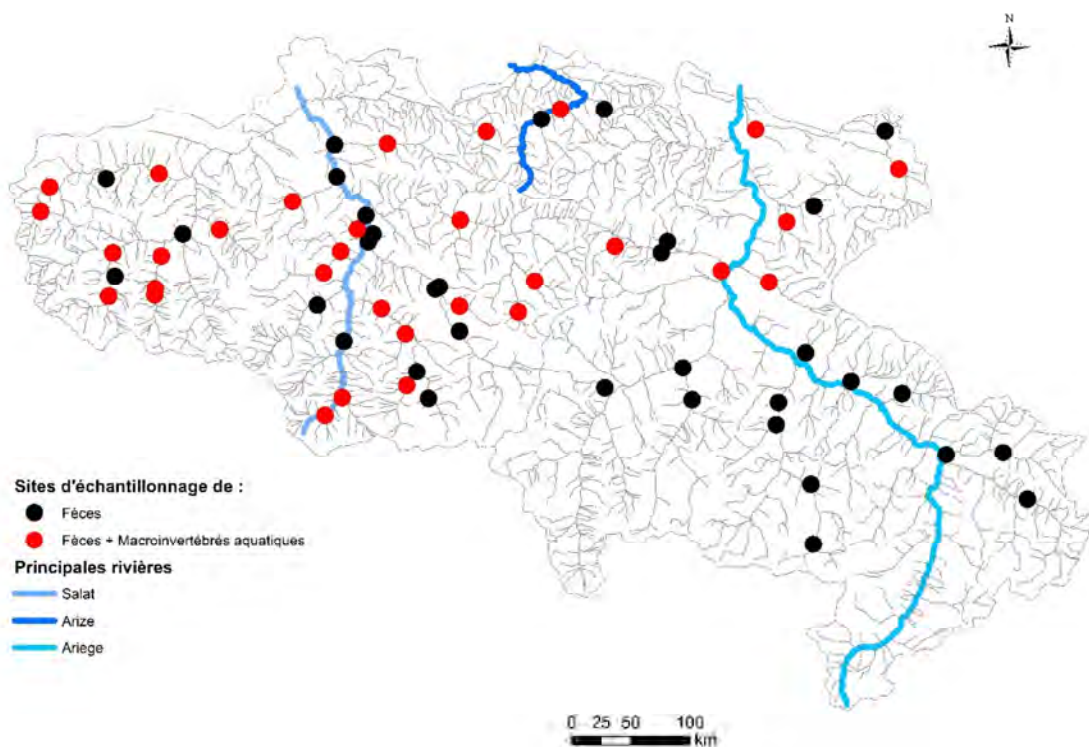


Figure 2-9 : Localisation des 65 sites d'échantillonnage de fèces de desman des Pyrénées et de crossope aquatique en Ariège et des 31 sites dans lesquels des prélèvements de macroinvertébrés aquatiques ont été réalisés.

L'échantillonnage de macroinvertébrés a été réalisé à la fin de l'été 2015, lorsque la majorité des émergences a eu lieu pour les invertébrés ayant un stade aquatique larvaire et un stade adulte terrestre volant. Cette période est ainsi caractérisée par des ressources trophiques qui peuvent être limitantes pour les mammifères semi-aquatiques puisque les communautés d'invertébrés sont alors moins diversifiées et dominées par des organismes de stade précoce et de petite taille (F. Colas, J. Jabiol, S. Lamothe, EcoLab, comm. pers.).

2.4.2. Protocole d'échantillonnage

Le protocole d'échantillonnage des macroinvertébrés aquatiques mis en œuvre s'est inspiré des protocoles standardisés français et européen (e.g. IBGN, I2M2 ; Mondy *et al.*, 2012) tout en tenant compte des contraintes matérielles (i.e. matériel à disposition, durée de l'échantillonnage, du tri et de l'identification) afin d'obtenir des données représentatives des cours d'eau échantillonnés. J'ai participé à l'intégralité de cet échantillonnage qui s'est déroulé en trois étapes décrites ci-dessous.

2.4.2.1. Description des habitats

Chaque site échantillonné pour les macroinvertébrés aquatiques correspondait aux mêmes 250 m de linéaire de cours d'eau prospectés à la recherche de fèces de mammifères en 2015.

Les habitats potentiellement disponibles pour les macroinvertébrés aquatiques ont été décrits selon :

- 12 catégories de substrats : algues, bryophytes, spermaphytes immergés, spermaphytes émergents, débris organiques grossiers/litières, chevelus racinaires/support ligneux, sédiments fins/vases < 0.1 mm, sables/limons < 2mm, granulats grossiers/graviers de 0.2 à 2.5 cm, pierres/galets de 2.5 à 25 cm, blocs > 25 cm, surfaces uniformes telles que roches, dalles, marnes et argiles compactes ;
- quatre catégories de vitesse de courant : nul, lent, moyen, rapide.

La surface mouillée totale du tronçon de cours d'eau occupée par chacune des 48 combinaisons substrat/courant (i.e. habitat de rivière) a été estimée en pourcentage pour chaque site échantillonné.

2.4.2.2. Prélèvement des macroinvertébrés aquatiques

Six prélèvements au filet Surber ($1/25^{\text{ème}}$ m² ; maille de 500 µm) ont été réalisés dans les habitats dominants pour chaque site. Un habitat de rivière était qualifié de dominant si sa surface était supérieure à 5 % de la surface mouillée totale du site. Parmi les habitats dominants, les prélèvements Surber ont été répartis suivant un échantillonnage stratifié (i.e. nombre de prélèvements proportionnel à la surface occupée par l'habitat dominant) afin d'être représentatifs de la mosaïque d'habitats disponibles dans le cours d'eau. Les habitats dominants dans les 31 sites échantillonnés correspondaient majoritairement à des substrats minéraux plutôt grossiers dans des faciès de courant plutôt rapide. Les macroinvertébrés aquatiques prélevés dans le filet Surber ont été placés dans des flacons puis congelés au laboratoire en attendant leur traitement.

2.4.2.3. Identification des macroinvertébrés aquatiques

Les macroinvertébrés aquatiques prélevés ont été triés, comptés et identifiés au niveau de la famille (excepté pour les Oligochètes et les Hydracariens) selon Tachet *et al.* (2000) afin d'éviter les problèmes d'identification des stades précoces. Le tri et l'identification des invertébrés collectés ont été réalisés au laboratoire EcoLab par Sylvain Lamothe (Ingénieur d'étude) aidé ponctuellement de Jérémy Jabiol (post-doctorant). La densité moyenne (i.e. nombre d'individus/m²) et la fréquence

d'occurrence (i.e. nombre relatif de prélèvements Surber contenant le taxon) ont ensuite été calculées pour chaque site et pour chaque taxon identifié.

2.5. DONNEES SUR LES PREDATEURS POTENTIELS DU DESMAN DES PYRENEES

2.5.1. Evolution récente de l'aire de répartition de la loutre d'Europe et du vison d'Amérique

Une collaboration mise en place avec plusieurs structures naturalistes² réparties sur l'ensemble des Pyrénées françaises a permis de rassembler des données de distribution du vison d'Amérique et de la loutre d'Europe en France pour les périodes historique (1980-1990) et actuelle (2011-2014). Ces périodes couvrent ainsi les périodes de prospection du desman des Pyrénées (respectivement 1985-1990 et 2011-2013).

La résolution spatiale des données provenant de différentes sources étant très hétérogène (i.e. coordonnées GPS, maille de 10 km, commune, zone hydrographique), elles ont toutes été compilées à l'échelle la plus grossière qui est celle des zones hydrographiques de la base de données CARTHAGE (CARTographie THématique des AGences de l'Eau et du ministère chargé de l'environnement, version 2011 ; <http://www.sandre.eaufrance.fr>). Seules les données de présence validée selon l'expertise des différentes structures ont été conservées lors de cette compilation.

2.5.2. Régime alimentaire de la loutre d'Europe et du vison d'Amérique

Afin d'obtenir des informations actualisées sur le régime alimentaire de la loutre d'Europe et du vison d'Amérique dans l'aire de répartition du desman des Pyrénées, une collaboration a été mise en place avec le CEN-MP dans le cadre du projet LIFE+ Desman.

² Partenaires : l'ANA, le CEN-MP, le CEN Aquitaine (CEN-A), Cistude Nature, la Fédération Aude-Claire (FAC), la Fédération Régionale des Chasseurs Midi-Pyrénées (FRC-MP), la Fédération des Réserves Naturelles Catalanes (FRNC), le Groupe de Recherche et d'Etude pour la Gestion de l'Environnement (GREGE), le Groupe Ornithologique du Roussillon (GOR), l'Union Meridionalis, Nature Midi-Pyrénées (NMP), l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), la Société Française pour l'Etude et la Protection des mammifères (SFEPM) par l'intermédiaire de Stéphane Aulagnier (CEFS-INRA Toulouse) et Françoise Poitevin (EPHE-CNRS-CEFE Montpellier).

Des partenaires de ce projet³ ont ainsi été sollicités afin de réaliser une campagne opportuniste de collecte de fèces de ces deux carnivores semi-aquatiques entre 2014 et 2016. Des fèces supposées appartenir à la loutre d'Europe ou au vison d'Amérique ont ainsi été récoltées aux abords immédiats des cours d'eau, à la fois dans la zone de présence du desman des Pyrénées (i.e. Pyrénées françaises) mais également hors de cette zone.

Ces échantillons ont ensuite été analysés par F. Gillet du laboratoire de génétique de l'Université de Liège afin de déterminer l'identité des prédateurs ainsi que des proies contenues dans les fèces, en suivant le même protocole d'analyses génétiques que celui décrit dans le §2.3.3.

Ces données sont détaillées dans le chapitre 7.

2.6. CARACTERISTIQUES ENVIRONNEMENTALES DES COURS D'EAU ECHANTILLONNES

Dans les chapitres 3, 4 et 7 de ce manuscrit, plusieurs groupes de variables environnementales ont été mis en relation avec la distribution du desman des Pyrénées. Ces variables ont été calculées au moyen d'outils cartographiques ou de modélisation, ou bien mesurées directement sur le terrain.

2.6.1. Variables environnementales à l'échelle du tronçon de cours d'eau et de la plaine alluviale

Plusieurs variables environnementales extraites de bases de données existantes (i.e. Guirresse *et al.*, 2014 ; Charbonnel, 2015) ont été utilisées pour caractériser les tronçons de cours d'eau et les plaines alluviales. Les variables extraites de la thèse d'Anaïs Charbonnel (2015) ont été calculées ou modélisées à l'échelle de tronçons de cours d'eau d'environ 1 km de long, issus d'un découpage des cours d'eau de la BD CARTHAGE.

2.6.1.1. Climat

Les variables climatiques utilisées sont originellement issues des données SAFRAN de Météo-France (Quintana-Seguí *et al.*, 2008 ; Pagé *et al.*, 2009) qui ont ensuite été interpolées sur l'ensemble des

³ Partenaires sollicités : ANA, CEN-A, CEN-MP, FAC, FRNC, NMP, ONCFS.

tronçons de cours d'eau pour les périodes historiques (1976-1985) et actuelles (2002-2011 ; Charbonnel, 2015 ; Charbonnel *et al.*, 2015, 2016). Deux variables d'intérêt ont été retenues pour cette étude :

- la température de l'air moyenne annuelle ;
- les précipitations moyennes annuelles.

2.6.1.2. Occupation du sol

Les variables décrivant l'occupation du sol sont dérivées de la base de données européenne Corine Land Cover (©Union Européenne – SoeS, Corine Land Cover, 2006) et ont été calculées pour l'étude de Charbonnel (2015). Elles décrivent :

- le pourcentage de zones urbanisées, agricoles, naturelles ou forestières présentes dans une zone tampon de 100 m autour des tronçons de cours d'eau.

2.6.1.3. Hydrologie

Les débits des cours d'eau pyrénéens ont été modélisés à l'aide du modèle hydrologique SWAT (Soil and Water Assessment Tool). A partir de données topographiques (IGN ©BD ALTI, 2006), ce modèle définit des bassins versants à une résolution spatiale fine qui servent d'unité de modélisation. Des données spatialisées décrivant le climat (Météo-France ©BD SAFRAN), le type de sol (© FAO, 2007) et l'occupation du sol (©Union Européenne – SoeS, Corine Land Cover) sont ensuite utilisées pour simuler les cycles hydrologiques au niveau de ces bassins versants (pour plus de détails voir Charbonnel, 2015 ; Charbonnel *et al.*, 2015, 2016). Les simulations des débits ont été validées après la comparaison des débits simulés avec des débits réels mesurés en continu au niveau de stations de jaugeage réparties dans les Pyrénées françaises. Les données de débit ont ensuite été attribuées aux tronçons de cours d'eau d'environ 1 km de la BD CARTHAGE, pour lesquels le débit mensuel moyen pour les périodes historique (1976-1985) et actuelle (2002-2011) a été calculé (Charbonnel, 2015 ; Charbonnel *et al.*, 2015, 2016).

2.6.1.4. Hydrographie

Les variables hydrographiques retenues pour cette étude incluent :

- la pente (%) du lit mineur (source : Charbonnel, 2015) ;

- le nombre d'affluents pour le tronçon d'intérêt et les tronçons proximaux directement en amont et en aval (source : Charbonnel, 2015) ;
- le rang de Strahler⁴ qui décrit la complexité du réseau hydrographique (Strahler, 1957) ;
- le rapport d'encaissement de la vallée dans laquelle coule le cours d'eau. Il correspond au ratio entre la largeur du fond de vallée et celle du lit mineur (source : Valette *et al.*, 2012). Cette mesure permet de distinguer les cours d'eau encaissés (e.g. gorges) de ceux présents dans une plaine alluviale plus large offrant aux cours d'eau des possibilités de divagation.

2.6.1.5. Pédologie

Une carte pédologique produite au sein du laboratoire EcoLab a été fournie par Guiresse *et al.* (2014) et le GIS sol (<https://www.gissol.fr/>) pour la zone d'étude située dans le département de l'Ariège. Cette carte définit des Unités Cartographiques de Sol (UCS) homogènes en termes de lithologie, de géomorphologie, d'occupation du sol et de caractéristiques pédologiques spécifiques provenant de prélèvements sur le terrain dans les plaines alluviales. Du fait de l'hétérogénéité de la répartition des sites d'échantillonnage dans les différentes UCS, une unique variable pédologique catégorielle a été retenue. Elle indique la présence ou l'absence de calcaire dans les premières strates du sol.

2.6.1.6. Perturbations humaines

Deux variables décrivant les perturbations d'origine anthropique (source : Charbonnel, 2015) ont été retenues pour cette étude :

- la densité d'obstacles à l'écoulement en amont du tronçon de cours d'eau considéré et calculée à partir du Référentiel des Obstacles à l'Ecoulement (ROE, 2013) de l'AFB (ex-ONEMA) ;
- la densité de population humaine dans une zone tampon de 100 m autour des tronçons de cours d'eau, calculée à partir de la base de données GEOFLA de l'IGN.

⁴ Le rang de Strahler 1 est attribué à toutes les sources et augmente vers l'aval à mesure que les cours d'eau de même rang se rejoignent.

2.6.2. Variables environnementales à l'échelle locale du tronçon de cours d'eau prospecté

Lors des prospections menées pour la recherche de fèces du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique, des variables environnementales décrivant la qualité chimique de l'eau, le lit mineur⁵, les berges et le lit majeur des tronçons de cours d'eau ont été relevées.

Chacun des sites prospectés a été divisé en cinq sous-sections de longueur égale pour la description des variables du lit mineur, des berges et du lit majeur. Les valeurs ont ensuite été moyennées pour caractériser la totalité du site.

2.6.2.1. Lit mineur

Plusieurs variables décrivant le lit mineur ont été mesurées durant les prospections menées dans les Pyrénées françaises (2011-2013) et/ou en Ariège (2015) :

- une estimation de la disponibilité en zones de dépôt pour les fèces des deux mammifères recherchés, traduite par le pourcentage de recouvrement du lit mineur en éléments émergés diversifiés et en cavités (Biffi *et al.*, 2016) ;
- le pourcentage de recouvrement du lit mineur en six grandes catégories de faciès d'écoulement inspirées de Malavoi & Souchon (2002) et définies en fonction de la profondeur du cours d'eau et de la vitesse du courant. Les faciès considérés sont les (i) plats (i.e. zones planes peu profondes, sans courant avec un substrat à granulométrie fine tel que le sable, la vase ou le limon), (ii) plat-courants (i.e. zones en pente douce, peu profondes avec un léger courant uniforme), (iii) radiers (i.e. zones de pente plus forte entraînant des turbulences et des substrats grossiers de galets et blocs), (iv) mouilles (i.e. zones profondes sans courant), (v) profond-courants, (vi) cascades ;
- la surface du lit mineur (%) colmatée par des sédiments fins (i.e. sables, argiles, limon) ;
- le pourcentage de recouvrement du lit mineur par huit catégories de granulométrie de substrat incluant (i) vase/limon (< 0.05 mm), (ii) sable (0.05 – 2mm), (iii) graviers (2 mm – 2 cm), (iv) cailloux (2 – 7 cm), (v) galets (7 - 25 cm), (vi) blocs (25 cm – 1m), (vii) gros blocs (> 1m), (viii) roche mère ;
- la largeur moyenne du lit mineur (m) ;

⁵ Le lit mineur correspond à la zone d'une rivière en eau sous des conditions normales de débit. Il est délimité par les berges au-delà desquelles commence le lit majeur qui désigne la zone adjacente des cours d'eau ponctuellement inondée lors de fortes crues.

- une estimation de l'impact des activités humaines sur le lit mineur correspondant à la proportion de sous-sections du tronçon de cours d'eau où la présence d'une perturbation a été observée. Ces perturbations incluent : la pêche, la baignade, la présence de troupeaux, les rejets d'eaux usées et les captages d'eau (i.e. irrigation, eau potable).

2.6.2.2. Berges

Les variables décrivant les berges (rive droite et rive gauche) incluent :

- la proportion (%) de racines, de terre ou de roches qui composent les berges ;
- une description de la végétation riparienne avec la proportion (%) de berges couvertes par les strates herbacées rases, herbacées hautes, arbustives, arborées ou sans végétation.

2.6.2.3. Lit majeur

Le lit majeur est décrit par la proportion de zones urbanisées telles que les zones de bâti, jardins ou routes le long du tronçon de cours d'eau prospecté.

2.6.2.4. Qualité chimique de l'eau

Un litre d'eau a été prélevé (dont 500 mL filtré *in situ* à 0.45 µm) dans chacun des 65 sites du département de l'Ariège échantillonnés en 2015. Ce prélèvement d'eau a eu lieu lors du second passage de collecte de fèces (août-septembre). Les échantillons d'eau ont été immédiatement congelés puis analysés par le Plateau d'Analyses Physico-Chimiques (PAPC) du Laboratoire EcoLab. La concentration en carbone organique dissous a été mesurée par oxydation catalytique à 680°C et mesure infrarouge du CO₂ (analyseur Shimadzu TOC-5000A). Les concentrations en ions nitrate, ammonium et phosphate ont été mesurées par chromatographie ionique hautes performances (appareils Dionex Ics-5000+ pour les anions ; Dionex DX-120 pour les cations). La conductivité de l'eau a été directement mesurée lors de l'échantillonnage dans une zone de plat courant grâce à une sonde multi-paramètres (EUTECH Instruments Série 600).

CHAPITRE 3.

Influence de facteurs abiotiques et biotiques sur la distribution locale du desman des Pyrénées

3.1. RESUME DU CHAPITRE

Les connaissances sur les exigences écologiques du desman des Pyrénées ont récemment été actualisées et complétées dans le cadre du PNAD et de la thèse d'Anaïs Charbonnel (Charbonnel, 2015 ; Charbonnel *et al.*, 2015, 2016 ; Biffi *et al.*, 2016). Ces études ont notamment mis en évidence l'importance de certaines variables environnementales décrivant le lit mineur, les berges, l'hydrologie, la topographie ainsi que des variables climatiques (précipitation et température moyenne) pour expliquer la distribution du desman des Pyrénées à différentes échelles spatiales en France (i.e. tronçon de rivière, bassin versant, Pyrénées françaises). Cependant, aucune de ces variables ne permet d'expliquer la contraction de l'aire de répartition du desman des Pyrénées au cours des deux dernières décennies et sa disparition de plusieurs bassins versants des Pyrénées françaises. Ceci suggère que d'autres facteurs dont l'influence sur la distribution de l'espèce n'a pas encore été testée sont vraisemblablement en jeu.

L'objectif de cette étude est donc d'explorer l'influence à fine échelle (i.e. tronçon de rivière) d'autres facteurs abiotiques ainsi que des facteurs biotiques (i.e. interactions entre espèces) sur la présence du desman des Pyrénées. Ces « nouvelles » variables dont l'influence n'a jusqu'à présent jamais été explorée sur le desman des Pyrénées décrivent :

- le lit mineur (i.e. granulométrie du substrat, largeur du cours d'eau, présence de perturbations anthropiques dans le lit mineur) ;
- les berges (i.e. hauteur de végétation, couverture par la strate arborée) ;
- la chimie de l'eau (i.e. conductivité, concentrations en différents ions) ;
- la topographie (i.e. encaissement du cours d'eau, rang de Strahler) ;
- la pédologie (i.e. substrat calcaire ou non) ;
- la présence de potentiels compétiteurs du desman des Pyrénées pour l'habitat et la ressource trophique (i.e. le cincle plongeur et la crossope aquatique ; Santamarina & Guitian, 1988 ; Santamarina, 1993 ; Bertrand, 1994 ; Castién & Gosálbez, 1999).

Afin d'identifier la contribution relative de ces « nouvelles » variables dans la distribution du desman des Pyrénées à fine échelle, d'autres variables dont l'influence a été avérée dans des études récentes (i.e. disponibilité en zones de dépôt de fèces, vitesse de courant, composition des berges, pente du cours d'eau ; Biffi *et al.*, 2016 ; Charbonnel *et al.*, 2016) ont également été incluses dans les analyses.

Des modèles linéaires généralisés (GLM) ont été utilisés pour étudier la relation entre la distribution du desman des Pyrénées (variable réponse) et les variables précédemment décrites (variables

explicatives). Jusqu'à présent, les paramètres environnementaux favorables au desman des Pyrénées n'ont été étudiés qu'en prenant en compte la présence ou absence de l'espèce (Morueta-Holme *et al.*, 2010 ; Williams-Tripp *et al.*, 2012 ; Biffi *et al.*, 2016 ; Charbonnel *et al.*, 2016) ou son histoire de détection (Charbonnel *et al.*, 2015). Dans ce chapitre, la variable réponse correspond au nombre de fèces de desman des Pyrénées recensées sur chaque tronçon de cours d'eau échantillonné. D'après Nores *et al.* (1998), les cours d'eau dans lesquels des individus de desman des Pyrénées ont été capturés présentaient une densité de fèces plus élevée que des cours d'eau où aucun individu n'avait été capturé. L'utilisation de cette variable réponse repose donc sur l'hypothèse que les cours d'eau dans lesquels un plus grand nombre de fèces de desman des Pyrénées sont recensés sont plus favorables à sa présence.

Cette étude a été menée sur les 65 tronçons de cours d'eau du département de l'Ariège décrits dans le chapitre 2. Une première analyse a permis de modéliser l'abondance de fèces du desman des Pyrénées pour chaque catégorie de variables explicatives. Elle a mis en évidence que les variables décrivant la topographie, le lit mineur et la chimie de l'eau expliquent mieux l'abondance de fèces de l'espèce que celles décrivant les interactions biotiques, les berges et la pédologie.

Une seconde analyse, basée sur une procédure automatisée de sélection de variables à partir du critère d'information d'Akaike corrigé (QAIC_q), a permis de ne conserver que celles qui influencent le plus l'abondance de fèces de desman des Pyrénées. Les combinaisons de variables retenues expliquent environ 50 % de la variabilité du nombre de fèces de desman des Pyrénées mais ont de faibles valeurs de QAIC_q indiquant des performances explicatives limitées. Les huit variables sélectionnées sont :

- une variable décrivant le lit mineur : les perturbations d'origine anthropique dans le lit mineur. Les abondances de fèces les plus élevées sont trouvées pour des valeurs intermédiaires (réponse en cloche) ;
- trois variables décrivant la topographie : (i) le rapport d'engraissement qui influence négativement le nombre de fèces, (ii) la pente qui a une influence positive, et (iii) le rang de Strahler. Les plus fortes abondances de fèces de desman des Pyrénées sont observées pour des rangs de Strahler intermédiaires (rangs 2 et 3) ;
- deux variables décrivant les interactions biotiques : (i) la présence du cincle plongeur qui influence positivement le nombre de fèces de desman des Pyrénées, et (ii) la présence de la crossope aquatique qui a, elle, une influence négative ;
- deux variables décrivant la chimie de l'eau : (i) la conductivité pour laquelle des abondances de fèces plus importantes sont observées pour des valeurs faibles à intermédiaire de

conductivité, et (ii) la concentration en ions ammonium qui influence négativement le nombre de fèces.

Parmi ces huit variables, les perturbations anthropiques dans le lit mineur et le rapport d'encaissement du cours d'eau sont celles qui sont les plus souvent sélectionnées dans les modèles et qui expliquent la plus grande variabilité du nombre de fèces de desman des Pyrénées recensées.

La contribution importante de ces huit variables à la distribution du desman des Pyrénées est mise en évidence ici pour la première fois, à l'exception de la pente. Cette étude confirme ainsi que l'intégrité du lit mineur est un facteur essentiel pour le maintien des populations de desman des Pyrénées. En effet, les perturbations anthropiques du lit mineur telles que le piétinement par les pêcheurs, les baigneurs ou les troupeaux ainsi que la présence de systèmes de rejet d'eaux usées ou de captage de l'eau, impactent directement le nombre de fèces retrouvées, et donc vraisemblablement la favorabilité des habitats pour le desman des Pyrénées. Ces perturbations modifient la structure du lit mineur et des berges ainsi que la qualité de l'eau avec des conséquences sur la richesse et l'abondance des communautés de macroinvertébrés aquatiques (e.g. Berenzen *et al.*, 2001 ; Dewson *et al.*, 2007a ; Escarpinati *et al.*, 2014) dont se nourrit le desman des Pyrénées (e.g. Bertrand, 1994).

L'influence positive de l'encaissement des cours d'eau sur le nombre de fèces de desman des Pyrénées peut s'expliquer par (i) une préférence de ce dernier pour les rivières plus encaissées et donc moins accessibles pour les activités humaines par rapport aux plaines alluviales plus larges et plates, et/ou (ii) une préférence pour des rivières possédant des conditions thermiques plus stables et des températures plus faibles (car l'encaissement réduit l'ensoleillement) qui pourraient bénéficier à l'espèce (e.g. Peyre, 1956 ; Richard, 1976 ; Hernandez, 1988 ; Aymerich & Gosálbez, 2014 ; Charbonnel *et al.*, 2015), et/ou (iii) une meilleure conservation des fèces vis-à-vis du soleil ou du lessivage par les pluies dans les rivières encaissées qui sont plus abritées.

Les relations trouvées entre le nombre de fèces et deux des variables décrivant la chimie de l'eau soulignent l'importance d'étudier plus en détails les impacts directs (i.e. sur la biologie et la physiologie de l'espèce) et indirects (i.e. sur sa ressource alimentaire) de la qualité de l'eau sur le desman des Pyrénées qui restent à ce jour très peu connus.

Certaines interactions biotiques semblent également expliquer significativement le nombre de fèces de desman des Pyrénées dans les cours d'eau, alors que celles-ci ont été décrites assez grossièrement dans cette étude en se limitant à la présence de deux compétiteurs trophiques potentiels sur le tronçon de cours d'eau. Néanmoins, il est surprenant de constater que l'influence de la présence de ces deux espèces sur le desman des Pyrénées ne semble pas être la même. En effet, la

relation trouvée entre la présence du cincle plongeur et le nombre de fèces de desman des Pyrénées est positive. Elle pourrait indiquer qu'un habitat favorable au cincle plongeur l'est également pour le desman des Pyrénées. Ceci semble cohérent avec les exigences écologiques de ces deux espèces qui sont proches notamment en termes de ressources trophiques (Santamarina & Guitian, 1988 ; Santamarina, 1993 ; Bertrand, 1994). Par contre, la relation négative mise en évidence entre le nombre de fèces de desman des Pyrénées et la présence de la crossope aquatique pourrait indiquer une compétition trophique ou spatiale. Le desman des Pyrénées pourrait ainsi éviter les cours d'eau occupés par cette musaraigne semi-aquatique qui présente une niche écologique similaire (e.g. Santamarina & Guitian, 1988 ; Castién & Gosálbez, 1999 ; Morueta-Holme *et al.*, 2010). Le plus grand nombre de fèces de desman des Pyrénées observées dans les cours d'eau où la crossope aquatique est absente pourrait également indiquer une différenciation de l'habitat chez ces deux espèces : des tronçons de cours d'eau fortement favorables à la présence du desman des Pyrénées ne le seraient pas pour la crossope aquatique.

Enfin, il est à noter que les performances prédictives des modèles restent globalement faibles. Ceci peut s'expliquer par plusieurs raisons. Premièrement, l'hypothèse formulée selon laquelle le nombre de fèces de desman des Pyrénées serait un bon indicateur de la favorabilité des habitats pour ce dernier est discutable. En effet, le dépôt de fèces par le desman des Pyrénées est encore mal compris. Par exemple, on ne sait pas si les deux sexes déposent leurs fèces ou si l'intensité du dépôt est la même pour tous les individus. Un nombre de fèces élevé n'est donc pas forcément synonyme d'un grand nombre d'individus dans le cours d'eau, et cette hypothèse reste à explorer. Deuxièmement, le desman des Pyrénées pourrait être tolérant à une gamme de conditions environnementales plus large que ce qui est actuellement connu. La zone d'étude choisie est particulièrement favorable à la présence de l'espèce dans les Pyrénées françaises (Charbonnel *et al.*, 2015, 2016). Ce choix a pu empêcher l'identification des conditions environnementales limitantes pour le desman des Pyrénées. Enfin, d'autres facteurs environnementaux ou d'autres interactions biotiques pourraient être importants pour expliquer la distribution de l'espèce. Etant donné la grande diversité de facteurs abiotiques déjà explorés, il peut être supposé que les interactions biotiques avec les proies ou les prédateurs potentiels (e.g. loutre d'Europe, vison d'Amérique) semblent la piste à privilégier.

Les résultats de cette étude sont détaillées dans l'article scientifique « What is the relative contribution of abiotic and biotic factors to the local distribution of a semi-aquatic mammal, the Pyrenean desman ? » en préparation.

3.2. ARTICLE 1

What is the relative contribution of abiotic and biotic factors to the local distribution of a semi-aquatic mammal, the Pyrenean desman?

Marjorie BIFFI¹, Pascal LAFFAILLE¹, Laëtitia BUISSON¹

¹*EcoLab, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9, France.*

En préparation.

Abstract

The distribution of the Pyrenean desman *Galemys pyrenaicus*, an endangered semi-aquatic mammal, has been explored to date in relation with various abiotic factors of its habitat (e.g. river bed and riverbank characteristics, hydrology, topography, climate). However, none of these abiotic factors has been emphasized to explain the recent range contraction of the species, suggesting the influence of other unexplored drivers. In this study, we investigated the influence of some of these unexplored variables on the presence of *G. pyrenaicus* at the local scale (i.e. stream reaches) in small watersheds of the French Pyrenees. Those variables described the riverbed, riverbank, water chemistry, topography, pedology and a few biotic interactions. Generalized Linear Models (GLM) were implemented to select the best drivers of *G. pyrenaicus* presence. Our results stressed the relevance of considering the human impacts at the riverbed scale, the narrowness of the stream and water chemistry to explain the local distribution of *G. pyrenaicus*. This finding gives support to the importance of maintaining the riverbed integrity for the species. As the presence of two potential competitor species, the Eurasian water shrew *Neomys fodiens* and the dipper *Cinclus cinclus*, were also important in explaining *G. pyrenaicus* presence in stream reaches, further studies are needed to assess to which extent biotic interactions may affect the distribution of *G. pyrenaicus* and help to understand its current decline.

Keywords

endangered species, stream reaches, topography, water chemistry, competitors

Introduction

Threats to aquatic ecosystems are particularly high due to their vulnerability to direct and indirect effects of human activities such as over-exploitation of water resources, pollution, introduction of alien species, use of hydraulic works, or climate change (Dudgeon *et al.*, 2006 ; Gangloff *et al.*, 2016). Those threats often result in the physical and chemical degradation, fragmentation and loss of aquatic habitats with the ensuing risks for plants and wildlife. Improving knowledge about species habitat requirements is thus a major issue to tackle biodiversity loss. Rare species with elusive behaviour are particularly at risk because the consequences of detrimental pressures on their environments may take longer to be identified, quantified and countered by conservation or restoration actions.

The Pyrenean desman *Galemys pyrenaicus* is a rare and semi-aquatic mammal endemic of the Iberian Peninsula and the Pyrenean Mountains. The species is listed as Vulnerable by the IUCN (Fernandes *et al.*, 2008) and is legally protected in the four countries where it is present. Recent local, national and European initiatives (e.g. in France: Némot *et al.*, 2011 ; LIFE+ Desman, 2013) have given priority to complement the knowledge about its ecology and habitat requirements at different spatial scales. For instance, the genetic structure of *G. pyrenaicus* populations (e.g. Igea *et al.* 2013 ; Gillet *et al.* 2017 ; Gillet *et al.* 2015 ; Querejeta *et al.* 2016, 2017 ; Escoda *et al.* 2017), its diet (e.g. Gillet 2015 ; Biffi *et al.* in press), its activity patterns and its social behaviour (Melero *et al.*, 2012, 2014) are now better known. The ecological requirements of the species have also been recently refined (Charbonnel, 2015). Environmental factors acting both at fine (i.e. riverbed, river banks ; Biffi *et al.*, 2016) and large (i.e. hydrology, climate, connectivity and topography ; Charbonnel *et al.*, 2015, 2016) scale were identified as major drivers shaping *G. pyrenaicus* distribution in the French Pyrenees. However, none of these factors could fully explain the substantial contraction of the species range observed over the past decades and its disappearance from several watersheds of the French Pyrenees (Fernandes *et al.*, 2008 ; Gisbert & García-Perea, 2014 ; Charbonnel *et al.*, 2016).

Many other abiotic factors are known to affect the local distribution of semi-aquatic and aquatic organisms but their influence on *G. pyrenaicus* has never been explored. For instance, other semi-aquatic mammals have been proven to be more (e.g. European mink, *Mustela lutreola* or European otter *Lutra lutra* ; Lodé *et al.*, 2001) or less (e.g. Eurasian water shrew *Neomys fodiens*, Scott *et al.*, 2012) sensitive to chemical water quality of streams. As an example, populations of the European otter in Devon (UK) were absent in streams with altered biological and chemical water quality (Bedford, 2009), likely related to water quality impacts on their fish prey. The oxygen concentration, presence of pollutants and physicochemical conditions of rivers were suggested to indirectly impact

G. pyrenaicus through alterations of the aquatic macroinvertebrates communities it feeds on (e.g. Santamarina, 1992 ; Bertrand, 1994). Also, anthropogenic pressures on the riverbed such as trampling by humans or cattle increase the amount of sediment loads from the riverbanks (Evans *et al.*, 2006), the silting of the riverbed substrate used by the benthic fauna and the drift of invertebrates and organic matter, with a direct reduction in the abundance and diversity of benthic macroinvertebrates (Escarpinati *et al.*, 2014). Water abstraction for irrigation or human consumption increases the risk of droughts (e.g. Benejam *et al.*, 2010) which are known to result in the loss of habitat and stream connectivity for aquatic organisms as well as the alteration of water quality and food resources (Lake, 2003). The soil pedology may also potentially affect the distribution of *G. pyrenaicus*. For instance, limestone substrate, which have an indirect effect on the presence and density of invertebrates in streams, is beneficial for the growth of the brown trout *Salmo trutta* (e.g. Kennedy & Fitzmaurice, 1971).

To date, the study of biotic interactions (e.g. trophic resources, competition, predation) has been neglected due to the difficulty of quantifying and incorporating these complex relationships (Soberón & Peterson, 2005) into species habitat modelling. It is however recognized that food availability strongly drives the presence and persistence of wildlife populations (Manly *et al.*, 2002) and that competition between species plays a key role in shaping communities (Alexandrou *et al.*, 2011). While the diet of *G. pyrenaicus* has been compared to the one of potential competitors for food resources and habitats (e.g. dipper *Cinclus cinclus* and Eurasian water shrew *Neomys fodiens* ; Santamarina, 1993 ; Castién & Gosálbez, 1999), co-occurrence patterns within streams have been overlooked.

In that context, the aim of this study was to investigate some abiotic and biotic factors that may explain the local distribution of the Pyrenean desman in the French Pyrenees. More specifically, we tested the relative contribution of different categories of variables including riverbank and riverbed description, water quality, topography, pedology, human pressures in the riverbed and the presence of two potential competitors. Those variables were chosen either because they have a known effect on *G. pyrenaicus* distribution (Biffi *et al.*, 2016 ; Charbonnel *et al.*, 2016) or because their influence on the species has never been tested to date.

Materials & methods

Study area

The study was conducted in the Ariège department, a French administrative region in the Pyrenees Mountains (Figure 1) where *G. pyrenaicus* has a high occurrence (Charbonnel *et al.*, 2015 ; Biffi *et al.*, 2016). The study area in the Ariège department is 2885 km² with a low human density (35 ± 71 inhabitants per km² ; GEOFLA © DB 2016). It is a mountainous zone (elevation range: 357 - 3109 m) with a continental climate. The mean annual temperature is 8.7 ± 2.5 °C and mean annual rainfall is of 1209.4 ± 173.0 mm. Land is mainly occupied by natural zones with forests (45.1 %), herbaceous or shrubby vegetation (23.5 %) and agriculture (13.6 % ; Corine Land Cover © DB 2012).

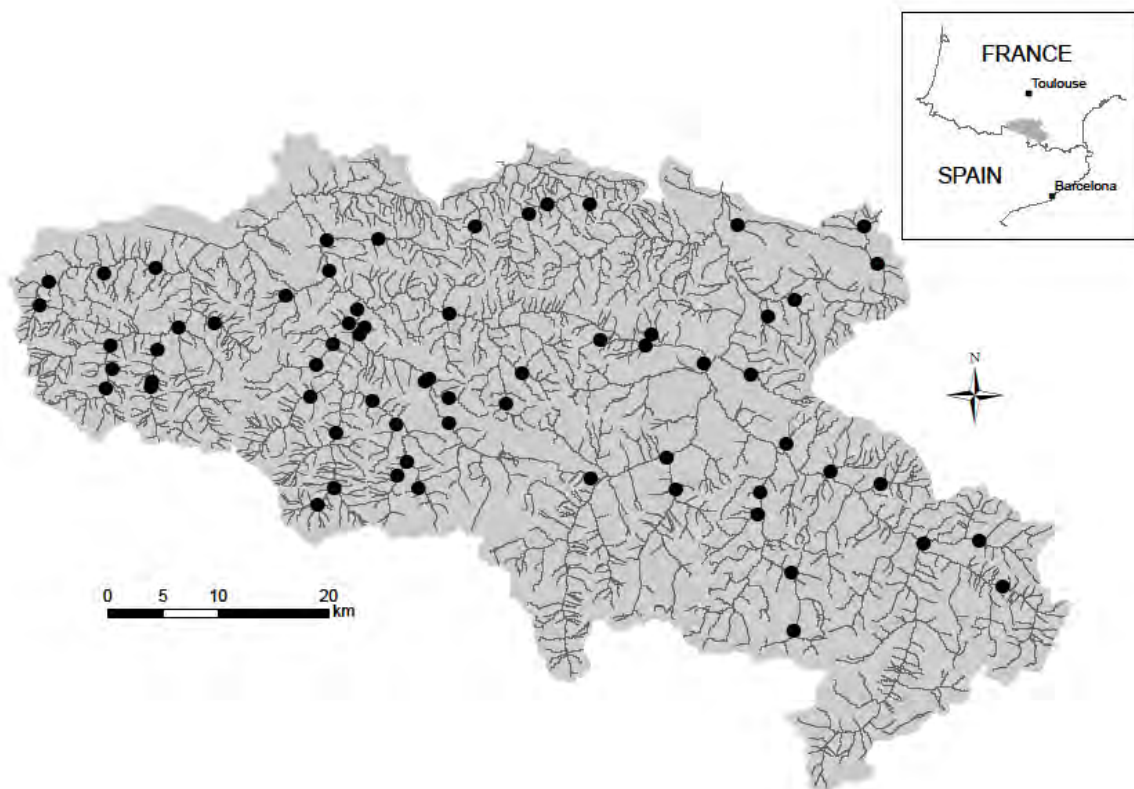


Figure 1: Location of the study area and sampling sites (black dots) in the French Pyrenees.

G. pyrenaicus, *N. fodiens* and *C. cinclus* occurrence records

Given the cryptic behaviour of *G. pyrenaicus*, faeces were searched twice between June and September 2015 in 65 selected sites spread over the entire study area (Figure 1). One site was a 250 m-long river transect where each emergent item of the riverbed (i.e. rock, tree root or branch) was

meticulously inspected by skilled observers. This length was chosen as a compromise between high detection rate and reasonable sampling time. It was also in accordance with (Aymerich & Gosálbez, 2014) who found high probability of *G. pyrenaicus* detection when conducting sampling on 200 m-long sections. Sampling was conducted under good and similar environmental conditions for both surveys, excluding periods during or after fluctuating waters (e.g. rainfall, dam release), and by the same observers, to avoid biasing the detection of *G. pyrenaicus* faeces (Charbonnel *et al.*, 2014).

All putative faeces of *G. pyrenaicus* as well as those of the Eurasian water shrew *N. fodiens*, that exhibit some degree of trophic overlap with the Pyrenean desman (Castián & Gosálbez, 1999) and thus may be a potential competitor, were collected based on their colour, size, smell and position. The search for faeces is an effective protocol for detecting the presence of *G. pyrenaicus* (Charbonnel *et al.*, 2014) and for *N. fodiens* which places its faeces on similar locations as *G. pyrenaicus* on emerging items near or within the riverbed (Aymerich & Gosálbez, 2004). For each faeces, the observer noted the degree of certainty about species identity. A maximum number of seven faeces per mammal species and per site were selected for further molecular analyses to confirm the presence of species in each site.

In addition, direct observations or indirect presence signs (i.e. pellets) of *C. cinclus*, another potential competitor of *G. pyrenaicus*, were recorded during sampling of mammal faeces.

DNA was extracted from faeces (n=464) using the Stool Mini Kit (Qiagen Inc., Hilden, Germany) and following the instructions from the manufacturer. PCR amplification was duplicated for each sample on a portion of the mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI ; for details, see Gillet *et al.*, 2015). The procedure included negative DNA extraction and PCR controls. PCR products were purified and purified amplicons were quantified. The quantification step allowed to pool final products at equimolarity before being sent to the GIGA Genomics platform (University of Liège, Belgium) for sequencing. Raw sequences were sorted and filtered using a script mixing FASTX Toolkit (http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit ; 23-09-16) and USEARCH (Edgar 2010) functions (see André *et al.*, 2017 for details on bioinformatics). Sequences originating likely from extraction or PCR contaminants were excluded from further analyses. The remaining sequences were compared with the reference online BOLD database for COI (Ratnasingham and Hebert, 2007). Sequences that had a unique best-hit were considered to be positive matches with an identity score higher or equal to 99 % for the identification of the species producing the faeces.

Abiotic variables

In addition to the presence of *N. fodiens* (NEOMYS) and *C. cinclus* (CINCLUS) in the sampled site (Table 1), a set of 18 abiotic variables (Table 1) was selected to describe local conditions at the site (i.e. 250 m-long sampled stream reach) or reach (i.e. 1 km-long stream reach that includes the sampled site) scale. They can be grouped in six categories of variables: riverbed, riverbank, water chemistry, topography, pedology and biotic interactions. Before statistical modelling, we ensured that these variables were not highly correlated (Spearman rank correlation < 0.7 for all pairs of variables). In addition, all quantitative abiotic variables were log-transformed to approach normality, except the variables derived from a Principal Component Analysis (i.e. CURRENT, GRAINS, HVEG).

Riverbed and riverbank variables were described in the field and computed for each 250 m-stream reach (see (Biffi *et al.*, 2016) for more details). Riverbed variables (DEPOS, CURRENT, GRAINS, WIDTH, HUMIMP) give information on emergent items, flow conditions, riverbed substrate size, mean width of the riverbed and presence of human impacts in the riverbed, respectively. Riverbed variables (ROOTS, DIRT, HVEG, TREE) describe the banks composition and the riparian vegetation.

The chemical quality of stream water (DOC, NITRAT, AMMON, PHOSPH) was assessed through the sampling of one litre of water collected for each site which was immediately filtered (mesh size: 0.45 μm). Filtered water samples were frozen and analyzed by the chemical analytical platform of the EcoLab Laboratory (Toulouse, France). The water conductivity (CONDUC) was directly measured in streams in shallow and non-turbulent fast waters (EUTECH Instruments Série 600 device).

The Strahler stream order (STRAH ; (Strahler, 1957), indicating the location of the sampled stream reach along the upstream-downstream gradient, was derived from the stream network of the study area (CARTHAGE © DB, French database on thematic mapping of the Water Agencies, 2011 version [http:// www.sandre.eaufrance.fr](http://www.sandre.eaufrance.fr)). It starts at one for headwater tributaries and increases by one when two streams of the same order merge. The narrowness of the river valley (NARROW) and the stream reach slope (SLOPE) were obtained from (Valette *et al.*, 2012) and (Charbonnel *et al.*, 2016), respectively.

The pedology in the surrounding floodplain soil of each stream reach was obtained from a map of soil landscape units (Guiesse *et al.*, 2014) ; GIS Sol, <https://www.gissol.fr/>) which are unique in terms of lithology, geomorphology, land use and pedological characteristics. As the number of sampling sites varied strongly between the soil landscape units, one single variable related to pedology was retained, namely the presence of limestone in the first soil strata, as it is known to affect aquatic species (e.g. Kennedy & Fitzmaurice, 1971).

Table 1: Abiotic and biotic factors variables expected to influence the abundance of *G. pyrenaicus* faeces in streams.

Category	Code	Description
Riverbed	DEPOS	Proportion (%) of the heterogeneity of emerging items and cavities representing an estimate of the availability in deposition areas for faeces.
	CURRENT	Index of current velocity derived from a Principal Component Analysis (PCA) conducted to summarize the proportion of six stream facies categories defined according to stream current velocity and depth: sheet, run, riffle, pool with no current, fast-flowing pool, falls. This index is the first axis of the PCA summarizing 35.9 % of the total variability. Small values indicate fast flowing waters.
	GRAINS	Index of riverbed substrate size derived from a PCA conducted to summarize the proportion of seven grain-size categories: silt/mud (<0.05 mm), sand (0.05-2 mm), gravel (2 mm-2 cm), pebbles (2-7 cm), cobbles (7-25 cm), boulders (25 cm-1 m), larger boulders (> 1 m). This index is the first axis of the PCA summarizing 36.5 % of the total variability. Small values correspond to the coarsest grain sizes.
	WIDTH	Mean width of the riverbed (m).
	HUMIMP	Proportion (%) of the stream reach where a human impact was observed (e.g. presence of fishermen, cattle, bathers, wastewater discharges, water abstraction).
Riverbank	ROOTS	Proportion (%) of banks with roots.
	DIRT	Proportion (%) of banks with bare soil or herbaceous vegetation.
	HVEG	Index of vegetation height on the riverbanks derived from a PCA conducted to summarize the proportion of the riverbanks covered by bare soil, short grasses, tall grasses and shrubby vegetation. This index is the first axis of the PCA summarizing 43.3% of the variability. Small values correspond to tall vegetation.
	TREE	Proportion (%) of the riverbanks covered by trees.
Water chemistry	DOC	Concentration of Dissolved Organic Carbon (mg/L) in water
	NITRAT	Concentration of nitrate ions (N-NO_3^- mg/L) in water
	AMMON	Concentration of ammonium ions (N-NH_4^+ mg/L) in water
	PHOSPH	Concentration of phosphate ions (P-PO_4^{3-} mg/L) in water
	CONDUC	Water conductivity ($\mu\text{S/cm}$)
Topography	SLOPE	Mean slope of the river section (%)
	NARROW	Ratio (%) of the width of the bottom of the valley divided by the width of the riverbed. Small values correspond to enclosed streams flowing in a V-shaped valley (e.g. gorge).
	STRAH	Stream order as defined by the "top down" system of Strahler (1957) indicating the level of branching in a river network. Headwater streams at the source are ranked one. When two rivers of the same order merge, the resulting stream takes one order higher. The higher order number is kept when two rivers with different order merge.
Pedology	PEDO	Category of soil type in the floodplain: calcareous vs. not-calcareous
Biotic interactions	NEOMYS	Occurrence of the Eurasian water shrew <i>N. fodiens</i> (1: detection vs. 0: no detection) validated from molecular analyses of faeces collected.
	CINCLUS	Occurrence of the dipper <i>C. cinclus</i> (1: detection vs. 0: no detection) from direct observations or detection of pellets

Statistical analyses

A statistical modelling approach was used to assess the relative contribution of the six categories of abiotic and biotic factors on the local distribution of *G. pyrenaicus*. Eighty-six percent of putative *G. pyrenaicus* faeces collected and analysed by molecular tools were confirmed to have been produced by the species. Given this high identification rate, the number of *G. pyrenaicus* faeces counted in each sampled stream reach was used as a surrogate for the abundance of *G. pyrenaicus*. The number of *G. pyrenaicus* faeces was the response variable in the following statistical modelling.

Generalized Linear Models (GLM) were fitted using a quasi-Poisson family distribution for errors and a log-link function as overdispersion was present in the response variable. First, six models were computed for each category of explanatory variables described above (hereafter called 'models by category' ; see Table 1). All models were tested for significance and their explanatory performances were compared using the proportion of explained deviance. Second, an automated model selection procedure was applied to a model including all the 20 selected abiotic and biotic variables (hereafter called 'full models'). To reduce the risk of over-fitting due to the small number of observations relative to the number of explanatory variables, the maximum number of explanatory variables included in the candidate models was set to six. This number seems to be a good compromise between the number of observations, the number of explanatory variables and the required computing time. Automated model selection (Calcagno & de Mazancourt, 2010) was based on the ranking of Akaike Information Criterion (AIC) values corrected for small sample size and overdispersed data, QAIC_c (Burnham & Anderson, 2002). An exhaustive screening of candidate models and comparison of QAIC_c enables to eliminate the least significant variables (i.e. those which did not reduce the QAIC_c of models). Models with $\Delta\text{QAIC}_c < 2$ in comparison with the model with the lowest QAIC_c value were retained as the best candidate models and tested for significance. The best candidate models were used to calculate the model-averaged relative importance of explanatory variables (Burnham & Anderson, 2002) as the sum of Akaike models weights in which the variable is included, rescaled between 0 and 1. The Akaike weights and percentages of explained deviance of the best models were also used to assess models explanatory performance.

All statistical analyses were conducted in R 3.3.2 (R Development Core Team, 2014) using the *ade4*, *glmulti*, *car* and *R.utils* packages. Recommendations of Casula *et al.* (2017) were followed for the automated selection of models with *glmulti* when data are overdispersed.

Results

Among the 464 faeces collected in the 65 sampled stream reaches that were analysed using molecular genetics tools, the presence of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* was confirmed in 58 and 39 stream reaches, respectively. The number of *G. pyrenaicus* faeces used as the response variable in the statistical models corresponded to (i) the total number of faeces observed in the field for the 58 sites where the presence of *G. pyrenaicus* was confirmed by molecular analyses, or (ii) zero when the identity of *G. pyrenaicus* was not confirmed by molecular tools. Thus, the number of *G. pyrenaicus* faeces in each of the 65 sampling sites ranged from 0 to 71 (mean: 14 ± 19 faeces).

Overall, ‘models by category’ explained between 0.3 and 30.6 % of the deviance in the number of *G. pyrenaicus* faeces (Figure 2). Variables describing the topography, riverbed and water chemistry explained the highest proportion of deviance in *G. pyrenaicus* faeces abundance while those describing the pedology and riverbank were very poor explanatory factors.

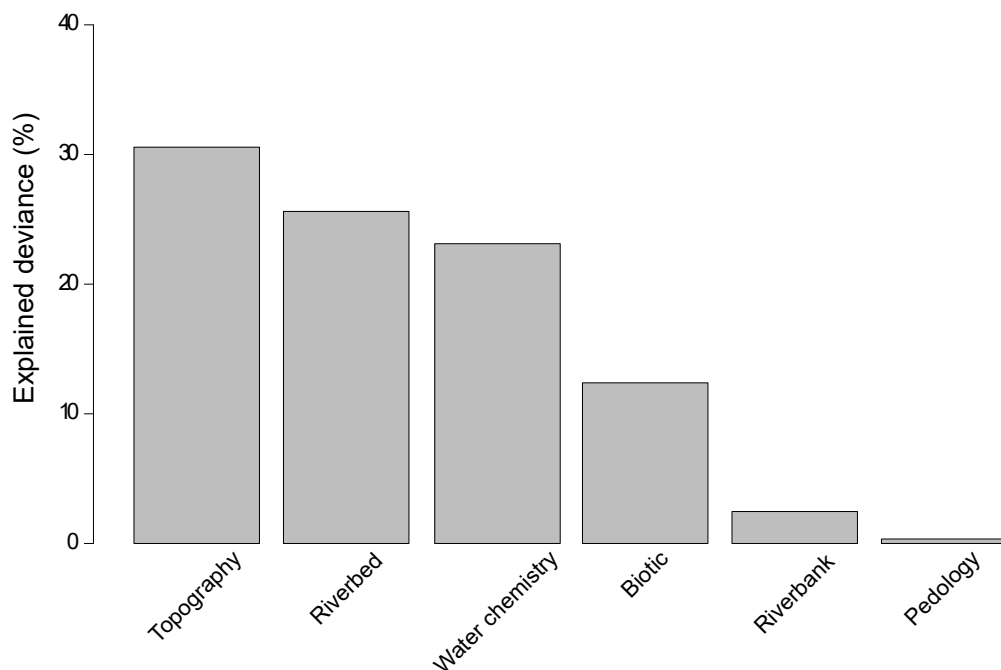


Figure 2: Explanatory power (% of deviance explained) of GLMs relating the number of *G. pyrenaicus* faeces to a single category of abiotic or biotic variables ('models by category'). See Table 1 for details about the variables belonging to each category.

The model selection procedure identified seven models as plausible candidates to best explain the abundance of *G. pyrenaicus* faeces according to QAICc ranking (Table 2). Those models explained between 44.9 and 52.1 % of the variability in the number of *G. pyrenaicus* faeces but exhibited low

Akaike weights (between 0.03 and 0.07 ; Table 2). Eight variables were selected with different combinations in the seven best candidate models. They included one riverbed variable (HUMIMP), three topography variables (NARROW, STRAH, SLOPE), two biotic variables (CINCLUS, NEOMYS) and two water chemistry variables (CONDOC, AMMON). The variables describing the riverbanks or pedology were not selected in any of the best candidate models. The relative importance (i.e. sum of Akaike models weights) of the selected best variables ranged from 0.14 to 1 and was the highest for HUMIMP and NARROW (Table 3).

Table 2: Best candidate GLMs ($\Delta QAI C_c < 2$) explaining the number of faeces of *G. pyrenaicus* in streams. See Table 1 for details about explanatory variables. ^2 is the quadratic term of the variable.

Models	QAICc	Weights	Explained deviance (%)
STRAH + NEOMYS + HUMIMP + I(HUMIMP^2) + NARROW + AMMON	82.76	0.07	52.11
STRAH + HUMIMP + I(HUMIMP^2) + NARROW + CONDOC + I(CONDOC^2)	83.86	0.04	50.96
CINCLUS + HUMIMP + I(HUMIMP^2) + SLOPE + CONDOC + I(CONDOC^2)	84.11	0.03	45.14
STRAH + HUMIMP + I(HUMIMP^2) + NARROW + I(CONDOC^2)	84.35	0.03	47.61
NEOMYS + CINCLUS + HUMIMP + I(HUMIMP^2) + NARROW + AMMON	84.36	0.03	44.87
STRAH + HUMIMP + I(HUMIMP^2) + NARROW + AMMON + I(CONDOC^2)	84.69	0.03	50.09
STRAH + NEOMYS + HUMIMP + I(HUMIMP^2) + NARROW + I(CONDOC^2)	84.70	0.03	50.08

The influence of HUMIMP and COND were most often non-monotonous and bell-shaped indicating that the number of *G. pyrenaicus* faeces collected was higher at low and intermediate values (Table 3). The negative estimate signs for NARROW, the presence of *N. fodiens* (NEOMYS 1) and AMMON suggested that those variables negatively affected the number of *G. pyrenaicus* faeces in streams. In contrast, there were more *G. pyrenaicus* faeces detected in streams where *C. cinclus* was also detected (Table 3). The number of *G. pyrenaicus* faeces was the highest in streams with Strahler order equalling two or three (Table 3). Last, the low estimate value of SLOPE (0.07 ; Table 3), compared to the other variables, suggested a limited contribution of this variable to the number of *G. pyrenaicus* faeces. This was supported by the smallest value of relative importance in models for this variable (0.14).

Table 3: Model-averaged estimates and relative importance of variables computed from the seven best candidate GLMs (see Table 2) relating the abundance of *G. pyrenaicus* faeces to abiotic and biotic factors. See Table 1 for details about explanatory variables. ^2 is the quadratic term of the variable.

Variable	Estimate	Number of models including the variable	Relative importance	Number of models where the variable is significant (p < 0.05)
HUMIMP	1.28	7	1	7
I(HUMIMP^2)	-0.30	7	1	7
NARROW	-0.70	6	0.86	6
STRAH 1	0.00	5	0.74	5
STRAH 2	1.62			
STRAH 3	1.29			
STRAH 4	0.69			
NEOMYS 0	0.00	3	0.49	1
NEOMYS 1	-0.28			
AMMON	-0.88	3	0.49	2
CONDOC	1.28	2	0.29	1
I(CONDOC^2)	-0.16	5	0.61	4
CINCLUS 0	0.00	2	0.26	2
CINCLUS 1	0.29			
SLOPE	0.07	1	0.14	1

Discussion

In this study, the relative influence of a large set of abiotic and biotic variables affecting potentially the local distribution of *G. pyrenaicus* in the central part of the French Pyrenees was addressed. Those variables included both environmental drivers that were previously known to influence the presence of *G. pyrenaicus* (e.g. composition of riverbank, flow conditions, Biffi *et al.*, 2016 ; slope of stream reaches, Charbonnel *et al.*, 2016) and other drivers that have never been explored so far (e.g. water chemistry, pedology).

In spite of a proportion of unexplained deviance in the number of *G. pyrenaicus* faeces remaining quite high, novel categories of environmental variables were identified as important in explaining the local distribution of the species. Models computed with drivers describing the topography, riverbed or water chemistry taken separately explained the greatest variability in the number of *G. pyrenaicus* faeces, compared to models including those describing biotic interactions, riverbanks or pedology separately. When considering variables from different categories in combination, models explained even greater variability in the response variable, suggesting that the abundance of *G. pyrenaicus* faeces is better explained by a mix of abiotic and biotic drivers.

The two drivers explaining the most the number of *G. pyrenaicus* faeces were the proportion of human activities in the riverbed and the narrowness of the stream valley. *G. pyrenaicus* faeces abundance was negatively influenced by the intensity of human impacts in the riverbed. Among them, we observed trampling by anglers, bathers or cattle that likely affects the structure of riverbed and riverbanks as well as macroinvertebrates richness and diversity (Hardiman & Burgin, 2011 ; Escarpinati *et al.*, 2014). The quality of water was also affected in some stream reaches by the presence of cattle manure, wastewater discharges and water abstraction systems. Biffi *et al.* (2016) found a lower influence of the presence of urban areas in the near floodplain on the presence of *G. pyrenaicus*. They suggested, as Peyre (1956), that the species may exhibit some tolerance to anthropogenic disturbances if riverbed and riverbanks conditions remain suitable. Thus, this study seems to confirm that all damages directly impacting the riverbed could have an adverse effect on *G. pyrenaicus* populations like the regression observed in the Spanish Pyrenees after a local dam release (Aymerich & Gosàlbez, 2015). The integrity of riverbed habitats at the finest local scale is thus an important factor making suitable conditions for *G. pyrenaicus* in streams.

Consistent with the negative influence of human impacts, a higher number of *G. pyrenaicus* faeces was also found in streams flowing in the narrowest valleys. Narrower valleys with steep floodplains are less accessible for human activities especially where they are forested, which was frequent in the narrowest streams of our study area. This stream configuration often results in limited anthropogenic alterations compared to wider and flatter lands. Narrow valleys are nevertheless still sensitive to canyoning activities which are known to negatively impact aquatic communities at the local scale (Hardiman & Burgin, 2011). Besides, narrow valleys prevent sun penetration that may ensure (i) a slower degradation of faeces, for instance, from flushing due to rainfall, and (ii) more stable and colder water temperature. Charbonnel *et al.* (2015) related positively the presence of *G. pyrenaicus* to colder air temperature and cold-water conditions were considered as an important factor explaining *G. pyrenaicus* presence in other studies (Peyre, 1956 ; Richard, 1976 ; Hernandez, 1988 ; Aymerich & Gosàlbez, 2014). The combination of both a better preservation of faeces and more suitable climate conditions for *G. pyrenaicus* may thus explain that more faeces were found in streams flowing in the narrowest valleys.

Water chemistry variables were highlighted to have also a substantial influence on the local distribution of *G. pyrenaicus*. The conductivity and concentration in ammonium ions were selected over a set of 20 candidate variables. The number of *G. pyrenaicus* faeces decreased with increasing ammonium concentration in stream water while the response to conductivity was bell-shaped peaking at rather low conductivity values ($\approx 100\mu\text{S}/\text{cm}$). The detrimental effects of nitrates on freshwater ecosystems are well known (Vitousek *et al.*, 1997 ; Camargo & Alonso, 2006). In this

study, the sampled stream reaches exhibited small concentration in ammonium (i.e. between 0.1 and 0.2 mg/L) that may suggest low potential toxicity risk. Overall, faeces of *G. pyrenaicus* presence were more numerous in streams with very limited ion content. Thus, thresholds at which ions concentration starts to negatively affect the species may be lower than for other species stressing the need to investigate the direct (e.g. on biology) and indirect (e.g. on prey) effects of water chemistry on *G. pyrenaicus*.

We found that the effect of interactions with two species co-occurring with *G. pyrenaicus* was not negligible although it was assessed roughly using simple binary variables (presence vs. no detection). The positive relationship between the presence of *C. cinclus* and *G. pyrenaicus* is consistent with their similar habitats and food requirements (Santamarina & Guitian, 1988 ; Santamarina, 1993 ; Bertrand, 1994) that resulted in suitable streams being occupied by both species. By contrast, the selected models highlighted a negative influence of the presence of *N. fodiens* on the number of *G. pyrenaicus* faeces. This finding could suggest a competition between both species that also use similar habitats and have similar food requirements (e.g. trophic resources: Santamarina, 1993 ; Castién & Gosálbez, 1999 ; habitats: Bertrand, 1994 ; Greenwood *et al.*, 2002 ; Keckel *et al.*, 2014 ; Biffi *et al.*, 2016). *G. pyrenaicus* would avoid stream reaches where *N. fodiens* is present to limit competitive interactions. In addition, the riverbed conditions suitable for the presence of *N. fodiens* may be less suitable for *G. pyrenaicus* (i.e. fewer number of faeces) if their use of microhabitats and ecological requirements at fine scale are different in streams. Thus, the effect of *N. fodiens* on *G. pyrenaicus* remains unclear and deserves to be further and more finely investigated.

Finally, the pedology has never been used so far to explain the presence of *G. pyrenaicus* whereas streams running on calcareous substrate are known, for instance, to benefit to *S. trutta* (e.g. Kennedy & Fitzmaurice, 1971). However, pedology appeared to be a poor variable category to explain the local distribution of *G. pyrenaicus* both in the 'models by category' and 'full models' as it was not selected among the best candidate variables. This lack of influence compared to the other categories of variables tested may result from inconsistency in the spatial resolution of data. Indeed, the pedology was derived for the near floodplain and not directly in streams due to data availability.

In spite of these original findings concerning the influence of overlooked categories of environmental drivers and biotic interactions in explaining the local distribution of *G. pyrenaicus*, the overall explanatory power of models remained relatively limited. This suggests that the set of selected variables is far from being sufficient to fully understand the fine-scale spatial distribution of this elusive species. First, it could be the result of an incorrect surrogate for the presence of *G. pyrenaicus*. To date, the habitat selection of *G. pyrenaicus* was studied using presence-absence data

(Biffi *et al.*, 2016) or detection histories (Charbonnel *et al.*, 2015, 2016). By contrast, the present study relies on the assumption that the higher the number of *G. pyrenaicus* faeces in streams, the more the stream is suitable for the species. Nores *et al.* (1998) found that the density of faeces was much higher in areas where *G. pyrenaicus* individuals were trapped (13.3 faeces per km) compared to areas where they were not trapped (3.3 faeces per km). Yet, the link between the number of *G. pyrenaicus* faeces and habitat suitability is still unclear and mechanisms of *G. pyrenaicus* marking are unknown. There is no clue about a potential link between faeces deposition and age, sex, season, abundance of resources or *G. pyrenaicus* density. For small animals such as *G. pyrenaicus*, faeces deposition may be the result of a very fast metabolism. Faeces deposition could also be a way of communication between *G. pyrenaicus* individuals, as reported for other semi-aquatic mammal such as *L. lutra* that marks its territory or interesting sites for resources with spraints (Kruuk, 1992 ; Kean *et al.*, 2011 ; Remonti *et al.*, 2011). *L. lutra* marking is known to be higher during the mating season while females stop marking after whelping (Kruuk, 2006). Other authors suggested that marking is related to prey abundance to avoid interspecific competition (Almeida *et al.*, 2012). Consequently, further studies are required to clarify if the number of *G. pyrenaicus* faeces is relevant to study its pattern of distribution and ecological requirements.

Second, the explanatory performances of our models may be relatively poor because other abiotic or biotic drivers could be more important in shaping *G. pyrenaicus* distribution at this local scale than those included in this study. A large diversity of environmental variables have been explored here and in previous studies (e.g. Charbonnel *et al.* 2015, 2016 ; Biffi *et al.* 2016), suggesting that missing variables would rather correspond to biotic interactions such as trophic resources and predators which are known to influence the local distribution of species. For instance, short-term studies on the introduced American mink *Neovison vison* in Spain reported a substantial decrease in the range of the Mediterranean or Miller's water shrew *N. anomalus* and the southern water vole *Arvicola sapidus* (García-Díaz *et al.*, 2013). A potential negative impact of *N. vison* on *G. pyrenaicus* was also suggested by several authors (Gisbert & García-Perea, 2014 ; Pedroso & Chora, 2014 ; Biffi *et al.*, 2016 ; Charbonnel *et al.*, 2016) but has never been properly investigated. Studies on food selectivity and prey availability should also be further documented as the decline of prey in altered conditions may directly impact their predators and cause the local extinction of populations. For instance, the reduction in the availability of food at high altitude was linked to a decrease in the presence and abundance of *L. lutra* (Ruiz-Olmo *et al.*, 2001).

Third, the moderate response of *G. pyrenaicus* to the high number of abiotic and biotic variables tested here and in previous studies could suggest that this species would be more tolerant to a wide range of environmental conditions than previously thought. Charbonnel *et al.* (2015, 2016) reported

that our study area was one of the most suitable zone for *G. pyrenaicus* in the French Pyrenees. In that context, it can be difficult to highlight non-optimal environmental conditions for the species. A similar study conducted in catchments where environmental conditions are less optimal would enable to disentangle *G. pyrenaicus* ecological requirements from the availability of environmental conditions.

Acknowledgements

We are grateful to all people who helped collecting data on the field and in the laboratory: C. Dupuyds, M. Alvarez., C. Lauzeral, F. Julien, V. Lacaze, S. Lamothe, J. Jabiol, J. Michaux, F. Gillet and A. André. We thank F. Julien and the chemical analytical platform of the EcoLab Laboratory (Toulouse, France) for the data on water chemistry and to E. Cambou and M. Guiresse for their precious help with pedological data. We also thank the “Conservatoire d’Espaces Naturels Midi-Pyrénées” (CEN-MP), especially M. Némot and F. Blanc, for their precious advices. This study was funded by EDF (Electricité de France) and the European Union (FEDER) in the context of the LIFE+ Nature programme devoted to the Pyrenean desman (LIFE13NAT/FR/000092).

References

- Alexandrou, M.A., Oliveira, C., Maillard, M., McGill, R.A.R., Newton, J., Creer, S., & Taylor, M.I. (2011) Competition and phylogeny determine community structure in Mullerian co-mimics. *Nature*, **469**, 84–88.
- Almeida, D., Barrientos, R., Merino-Aguirre, R., & Angeler, D.G. (2012) The role of prey abundance and flow regulation in the marking behaviour of Eurasian otters in a Mediterranean catchment. *Animal Behaviour*, **84**, 1475–1482.
- Aymerich, P. & Gosálbez, J. (2004) La prospección de excrementos como metodología para el estudio de la distribución de los musgaños (*Neomys* sp.). *Galemys*, **16**, 83–90.
- Aymerich, P. & Gosálbez, J. (2014) El desmán ibérico *Galemys pyrenaicus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) en los Pirineos meridionales. *Munibe Monographs. Nature Series*, **3**, 37–77.
- Aymerich, P. & Gosálbez, J. (2015) Evidencias de regresión local del desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*) en los Pirineos meridionales. *Galemys*, **27**, 31–40.
- Bedford, S.J. (2009) The effects of riparian habitat quality and biological water quality on the European Otter (*Lutra lutra*) in Devon. *Bioscience Horizons*, **2**, 125–133.
- Benejam, L., Angermeier, P.L., Munné, A., & García-Berthou, E. (2010) Assessing effects of water abstraction on fish assemblages in Mediterranean streams. *Freshwater Biology*, **55**, 628–642.
- Bertrand, A. (1994) Répartition géographique et écologie alimentaire du desman des Pyrénées, *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) dans les Pyrénées françaises. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, 50 p.
- Biffi, M., Charbonnel, A., Buisson, L., Blanc, F., Némot, M., & Laffaille, P. (2016) Spatial differences across the French Pyrenees in the use of local habitat by the endangered semi-aquatic Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **26**, 761–774.
- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (2002) Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer Verlag. 515p.
- Calcagno, V. & de Mazancourt, C. (2010) glmulti: an R package for easy automated model selection with (generalized) linear models. *Journal of Statistical Software*, **34**, 29p.

- Camargo, J.A. & Alonso, Á. (2006) Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, **32**, 831–849.
- Castién, E. & Gosálbez, J. (1999) Habitat and food preferences in a guild of insectivorous mammals in the Western Pyrenees. *Acta Theriologica*, **44**, 1–13.
- Casula, P., Luiselli, L., Milana, G., & Amori, G. (2017) Habitat structure and disturbance affect small mammal populations in Mediterranean forests. *Basic and Applied Ecology*, **19**, 76–83.
- Charbonnel, A. (2015) Influence multi-échelle des facteurs environnementaux dans la répartition du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) en France. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, 245p.
- Charbonnel, A., Buisson, L., Biffi, M., D'Amico, F., Besnard, A., Aulagnier, S., Blanc, F., Gillet, F., Lacaze, V., Michaux, J.R., Némóz, M., Pagé, C., Sanchez-Perez, J.M., Sauvage, S., & Laffaille, P. (2015) Integrating hydrological features and genetically validated occurrence data in occupancy modelling of an endemic and endangered semi-aquatic mammal, *Galemys pyrenaicus*, in a Pyrenean catchment. *Biological Conservation*, **184**, 182–192.
- Charbonnel, A., D'Amico, F., Besnard, A., Blanc, F., Buisson, L., Némóz, M., & Laffaille, P. (2014) Spatial replicates as an alternative to temporal replicates for occupancy modelling when surveys are based on linear features of the landscape. *Journal of Applied Ecology*, **51**, 1425–1433.
- Charbonnel, A., Laffaille, P., Biffi, M., Blanc, F., Maire, A., Némóz, M., Sanchez-Perez, J.M., Sauvage, S., & Buisson, L. (2016) Can recent global changes explain the dramatic range contraction of an endangered semi-aquatic mammal species in the French Pyrenees? *PLOS ONE*, **11**, e0159941.
- Dudgeon, D., Arthington, A.H., Gessner, M.O., Kawabata, Z.-I., Knowler, D.J., Lévêque, C., Naiman, R.J., Prieur-Richard, A.-H., Soto, D., Stiassny, M.L.J., & Sullivan, C.A. (2006) Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, **81**, 163–182.
- Escarpinati, S.C., Siqueira, T., Medina-Jr, P.B., & Roque, F. de O. (2014) Short-term effects of visitor trampling on macroinvertebrates in karst streams in an ecotourism region. *Environmental Monitoring and Assessment*, **186**, 1655–1663.

- Escoda, L., González-Esteban, J., Gómez, A., & Castresana, J. (2017) Using relatedness networks to infer contemporary dispersal: application to the endangered mammal *Galemys pyrenaicus*. *Molecular Ecology*, **26**, 3343–3357.
- Evans, D.J., Gibson, C.E., & Rossell, R.S. (2006) Sediment loads and sources in heavily modified Irish catchments: A move towards informed management strategies. *Geomorphology*, **79**, 93–113.
- Fernandes, M., Herrero, J., Aulagnier, S., & Amori, G. (2008) *Galemys pyrenaicus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T8826A12934876. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T8826A12934876.en>. Downloaded on 1 June 2014.
- Gangloff, M.M., Edgar, G.J., & Wilson, B. (2016) Imperilled species in aquatic ecosystems: emerging threats, management and future prognoses. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **26**, 858–871.
- García-Díaz, P., Arévalo, V., Vicente, R., & Lizana, M. (2013) The impact of the American mink (*Neovison vison*) on native vertebrates in mountainous streams in Central Spain. *European Journal of Wildlife Research*, **59**, 823–831.
- Gillet, F. (2015) Génétique et biologie de la conservation du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) en France. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse (France)/Université de Liège (Belgique), 228p.
- Gillet, F., Tiouchichine, M.-L., Galan, M., Blanc, F., Némoy, M., Aulagnier, S., & Michaux, J.R. (2015) A new method to identify the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) and to study its diet, using next generation sequencing from faeces. *Mammalian Biology*, **80**, 505–509.
- Gillet, F., Garrido, C., T, M., Blanc, F., Fournier-Chambrillon, C., Némoy, M., Sourp, E., Vial-Novella, C., Zardoya, R., Aulagnier, S., & Michaux, J.R. (2017) Evidence of fine-scale genetic structure for the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) in the French Pyrenees. *Journal of Mammalogy*, **98**, 523–532.
- Gisbert, J. & García-Perea, R. (2014) Historia de la regresión del desmán ibérico *Galemys pyrenaicus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) en el Sistema Central (Península Ibérica). In: Conservation and management of semi-aquatic mammals of southwestern Europe. *Munibe Monographs. Nature Series*, **3**, 19–35.

- Greenwood, A., Churchfield, S., & Hickey, C. (2002) Geographical distribution and habitat occurrence of the water shrew (*Neomys fodiens*) in the Weald of South-East England. *Mammal Review*, **32**, 40–50.
- Guirese, M., Cambou, E., Collin Bellier, C., Denjean, A., Falba, P., Guigues, E., Mouclier, M., Muller, N., Nesling, E., Party, J.P., Rigou, L., Schneider, A., Toiser, A., Vauthier, Q., Yken, E., & Revel, J.C. (2014) Les Pédo-paysages des plaines centrales de Midi-Pyrénées. *Etude et Gestion des Sols*, **21**, 77–84.
- Hardiman, N. & Burgin, S. (2011) Effects of trampling on in-stream macroinvertebrate communities from canyoning activity in the Greater Blue Mountains World Heritage Area. *Wetlands Ecology and Management*, **19**, 61–71.
- Hernandez, A. (1988) Observaciones sobre la distribución, hábitat y comportamiento del topo de río *Galemys pyrenaicus* Geoffroy, 1811 en el río torío (León). *Misc. Zool.*, **12**, 386–389.
- Igea, J., Aymerich, P., Fernández-González, A., González-Esteban, J., Gómez, A., Alonso, R., Gosálbez, J., & Castresana, J. (2013) Phylogeography and postglacial expansion of the endangered semi-aquatic mammal *Galemys pyrenaicus*. *BMC Evolutionary Biology*, **13**, 1–19.
- Kean, E.F., Müller, C.T., & Chadwick, E.A. (2011) Otter Scent signals age, sex, and reproductive status. *Chemical Senses*, **36**, 555–564.
- Keckel, M.R., Ansorge, H., & Stefen, C. (2014) Differences in the microhabitat preferences of *Neomys fodiens* (Pennant 1771) and *Neomys anomalus* Cabrera, 1907 in Saxony, Germany. *Acta Theriologica*, **59**, 485–494.
- Kennedy, M. & Fitzmaurice, P. (1971) Growth and food of brown trout *Salmo trutta* (L.) in Irish waters. *Proceedings of the Royal Irish Academy. Section B: Biological, Geological, and Chemical Science*, **71**, 269–352.
- Kruuk, H. (1992) Scent marking by otters (*Lutra lutra*): signaling the use of resources. *Behavioral Ecology*, **3**, 133–140.
- Kruuk, H. (2006) Otters ecology, behaviour and conservation. Oxford: Oxford University Press. 265p.
- Lake, P.S. (2003) Ecological effects of perturbation by drought in flowing waters. *Freshwater Biology*, **48**, 1161–1172.

- LIFE+ Desman (2013) Technical Application Forms – Conservation of the French populations of *Galemys pyrenaicus* and its populations on the French Pyrénées, (LIFE13 NAT/FR/000092). 274p.
- Lodé, T., Cormier, J.-P., & Jacques, D.L. (2001) Decline in endangered species as an indication of anthropic pressures: the case of European mink *Mustela lutreola* western population. *Environmental Management*, **28**, 727–735.
- Manly, B.F.J., McDonald, L.L., Thomas, D.L., McDonald, T.L., & Erickson, W.P. (2002) Resource selection by animals: statistical design and analysis for field studies. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 231p.
- Melero, Y., Aymerich, P., Luque-Larena, J.J., & Gosálbez, J. (2012) New insights into social and space use behaviour of the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*). *European Journal of Wildlife Research*, **58**, 185–193.
- Melero, Y., Aymerich, P., Santulli, G., & Gosálbez, J. (2014) Activity and space patterns of Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) suggest non-aggressive and non-territorial behaviour. *European Journal of Wildlife Research*, **60**, 707–715.
- Némoz, M., Bertrand, A., Sourie, M., & Arlot, P. (2011) A French Conservation Action Plan for the Pyrenean Desman *Galemys pyrenaicus*. *Galemys*, **23**, 47–50.
- Nores, C., Ojeda, F., Ruano, A., Villate, I., González, J., Cano, J.M., & García, E. (1998) Estimating the population density of *Galemys pyrenaicus* in four Spanish rivers. *Journal of Zoology*, **246**, 454–457.
- Pedroso, N.M. & Chora, S. (2014) The Iberian desman *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) in Portugal: status and conservation. *Munibe Monographs. Nature Series*, **3**, 13–18.
- Peyre, A. (1956) Ecologie et biogeographie du desman (*Galemys pyrenaicus*) dans les Pyrénées françaises. *Mammalia*, **20**, 405–418.
- Querejeta, M., Fernández-González, A., Romero, R., & Castresana, J. (2017) Postglacial dispersal patterns and mitochondrial genetic structure of the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) in the northwestern region of the Iberian Peninsula. *Ecology and Evolution*, **7**, 4486–4495.

- Querejeta, M., González-Esteban, J., Gómez, A., Fernández-González, A., Aymerich, P., Gosálbez, J., Escoda, L., Igea, J., & Castresana, J. (2016) Genomic diversity and geographical structure of the Pyrenean desman. *Conservation Genetics*, **17**, 1333–1344.
- Remonti, L., Balestrieri, A., Smiroldo, G., & Prigioni, C. (2011) Scent marking of key food sources in the Eurasian otter. *Annales Zoologici Fennici*, **48**, 287–294.
- Richard, P.B. (1976) Extension en France du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) et son environnement. *Bulletin d'Ecologie*, **7**, 327–334.
- Ruiz-Olmo, J., López-Martín, J.M., & Palazón, S. (2001) The influence of fish abundance on the otter (*Lutra lutra*) populations in Iberian Mediterranean habitats. *Journal of Zoology*, **254**, 325–336.
- Santamarina, J. (1992) Trophic resources of *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) in relation with water quality. In: Proceedings of the meeting on the Pyrenean desman, Lisbon. 27–32.
- Santamarina, J. (1993) Feeding ecology of a vertebrate assemblage inhabiting a stream of NW Spain (Riobo ; Ulla basin). *Hydrobiologia*, **252**, 175–191.
- Santamarina, J. & Guitian, J. (1988) Quelques données sur le régime alimentaire du desman (*Galemys pyrenaicus*) dans le nord-ouest de l'Espagne. *Mammalia*, **52**, 302–307.
- Scott, D.M., Southgate, F., Overall, A.J., Waite, S., & Tolhurst, B.A. (2012) The Eurasian water shrew: an unsuitable candidate species for a vertebrate bio-indicator of aquatic pollution. *Journal of Zoology*, **286**, 30–37.
- Soberón, J. & Peterson, A.T. (2005) Interpretation of models of fundamental ecological niches and species' distributional areas. *Biodiversity Informatics*, **2**, 1–10.
- Strahler, A.N. (1957) Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Eos, Transactions American Geophysical Union*, **38**, 913–920.
- Valette, L., Piffady, J., Chandesris, A., & Souchon, Y. (2012) SYRAH-CE : description des données et modélisation du risque d'altération de l'hydromorphologie des cours d'eau pour l'Etat des lieux DCE. 104p.
- Vitousek, P.M., Aber, J.D., Howarth, R.W., Likens, G.E., Matson, P.A., Schindler, D.W., Schlesinger, W.H., & Tilman, D.G. (1997) Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecological Applications*, **7**, 737–750.

CHAPITRE 4.

Utilisation de nouvelles approches de génétique moléculaire pour améliorer les connaissances sur le régime alimentaire du desman des Pyrénées

4.1. RESUME DU CHAPITRE

Le chapitre précédent a montré qu'une combinaison de facteurs abiotiques et biotiques influence la distribution du desman des Pyrénées à l'échelle locale, ou au moins le dépôt de ses fèces. Parmi les facteurs biotiques, seule la présence de deux compétiteurs potentiels (i.e. le cincle plongeur et la crossope aquatique) a été étudiée. Or, il est connu que les relations proies-prédateurs affectent également la répartition locale d'une espèce, notamment la disponibilité des proies et leur distribution (e.g. Ruiz-Olmo *et al.*, 2001). Certains déclin de populations de prédateurs peuvent même s'expliquer par ceux de leurs proies (e.g. Real *et al.*, 2009).

Jusqu'à présent, les connaissances sur le régime alimentaire du desman des Pyrénées étaient issues d'un échantillonnage limité spatialement à de petites zones géographiques et basées sur l'identification morphologique des restes de proies trouvés dans les fèces ou dans les contenus stomacaux d'individus capturés et sacrifiés (e.g. Santamarina & Guitian, 1988 ; Santamarina, 1993 ; Bertrand, 1994 ; Castién & Gosálbez, 1995). Bien qu'apportant une information précieuse, ces techniques basées sur l'observation des restes de proies présentent l'inconvénient (i) de devoir sacrifier les individus pour obtenir des contenus stomacaux, ce qui soulève des questions éthiques lorsqu'il s'agit d'étudier des espèces rares, menacées et/ou protégées, (ii) de sous-estimer les proies qui ne laissent pas de restes dans les fèces ou le tube digestif (e.g. les proies à corps « mou »), (iii) d'identifier difficilement des restes alimentaires très dégradés à un niveau taxonomique plus fin que celui de la famille, et (iv) de nécessiter du temps et une expertise naturaliste pointue. Pour palier cela, de nouvelles méthodes de génétique moléculaire ont été développées récemment (e.g. voir Pompanon *et al.*, 2012) et appliquées avec succès à l'identification des proies du desman des Pyrénées contenues dans ses fèces (Gillet *et al.*, 2015). Toutefois, le nombre réduit d'échantillons utilisés n'a pas permis de réaliser une description exhaustive du régime alimentaire du desman des Pyrénées à l'échelle des Pyrénées françaises.

L'objectif de ce chapitre est donc d'améliorer les connaissances sur le régime alimentaire du desman des Pyrénées grâce à l'utilisation de ces méthodes génétiques, couplées pour la première fois à un échantillonnage important de fèces (n = 989) récoltées sur l'ensemble des Pyrénées françaises (i.e. dans plus de 1300 sites répartis des Pyrénées Atlantiques aux Pyrénées Orientales). Cet échantillonnage a été mené entre 2011 et 2013 dans le cadre du Plan National d'Actions en faveur du desman des Pyrénées (Némoz & Bertrand, 2008). Cette étude est sans précédent en termes de couverture spatiale de l'échantillonnage, du nombre d'échantillons analysés et de la résolution taxonomique des proies identifiées.

Elle a permis d'identifier des proies appartenant au total à 156 genres, 91 familles et 30 ordres (Figure 4-1) dont plus de la moitié ont été identifiées pour la première fois comme proies du desman des Pyrénées.

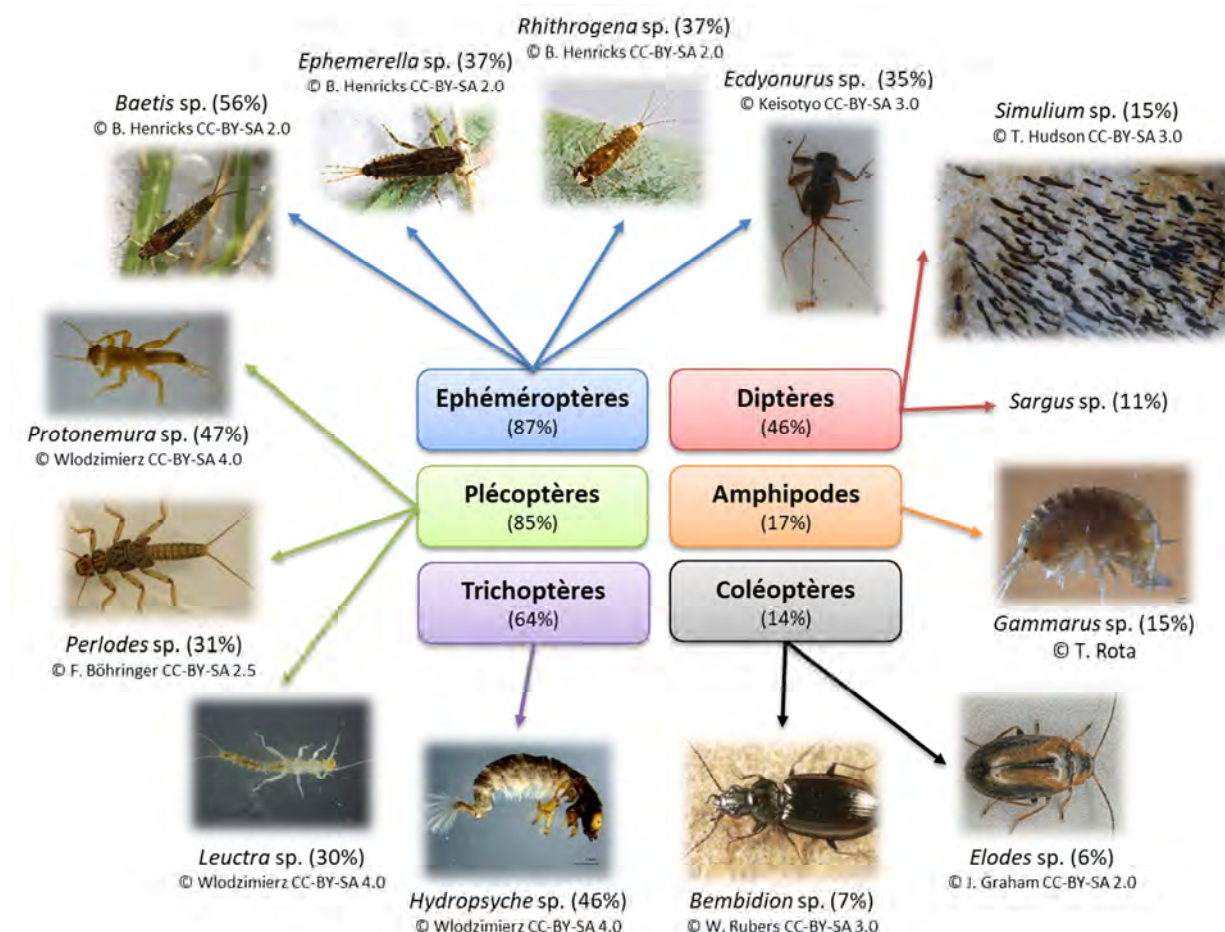


Figure 4-1 : Ordres d'invertébrés présents dans plus de 10 % des fèces du desman des Pyrénées collectées dans les Pyrénées françaises entre 2011 et 2013 et genres les plus fréquemment consommés parmi ces ordres. Les fréquences d'apparition (i.e. % de fèces contenant le taxon par rapport au nombre de fèces total) des différents taxons dans les fèces du desman des Pyrénées sont indiquées entre parenthèses.

Les préférences alimentaires du desman des Pyrénées, mises en évidence par des études plus anciennes utilisant des méthodes traditionnelles d'identification des proies (Santamarina & Guitian, 1988 ; Santamarina, 1993 ; Bertrand, 1994 ; Castién & Gosálbez, 1995), ont été confirmées avec une consommation prépondérante de trois grands ordres d'insectes : Trichoptera, Ephemeroptera et Plecoptera (Figure 4-1). Alors que ces précédentes études considéraient le desman des Pyrénées comme un prédateur spécialiste ciblant les macroinvertébrés benthiques des cours d'eau, cette étude a plutôt mis en évidence un régime alimentaire généraliste vraisemblablement adapté aux conditions environnementales locales. En effet, le desman des Pyrénées consomme une très grande diversité de proies qui inclut notamment une proportion non négligeable de proies strictement

terrestres (i.e. $\approx 8\%$ des proies consommées par fèces) ainsi qu'un nombre élevé de proies rares (i.e. 91 % des taxons consommés ont été retrouvés dans moins de 10 % des sites).

D'autre part, l'existence de trois sous-populations de desman des Pyrénées délimitées par les trois grandes régions hydrographiques des Pyrénées françaises avait été constatée en termes de structuration génétique des populations (Gillet, 2015 ; Figure 4-2) et de l'utilisation de l'habitat local dans les cours d'eau (Biffi *et al.*, 2016). Ces trois régions hydrographiques diffèrent aussi en termes de variables environnementales à large échelle (e.g. superficie des bassins versants, climat, altitude, occupation des sols). La présente étude vise donc également à étudier une éventuelle différence de régime alimentaire dans ces trois régions.

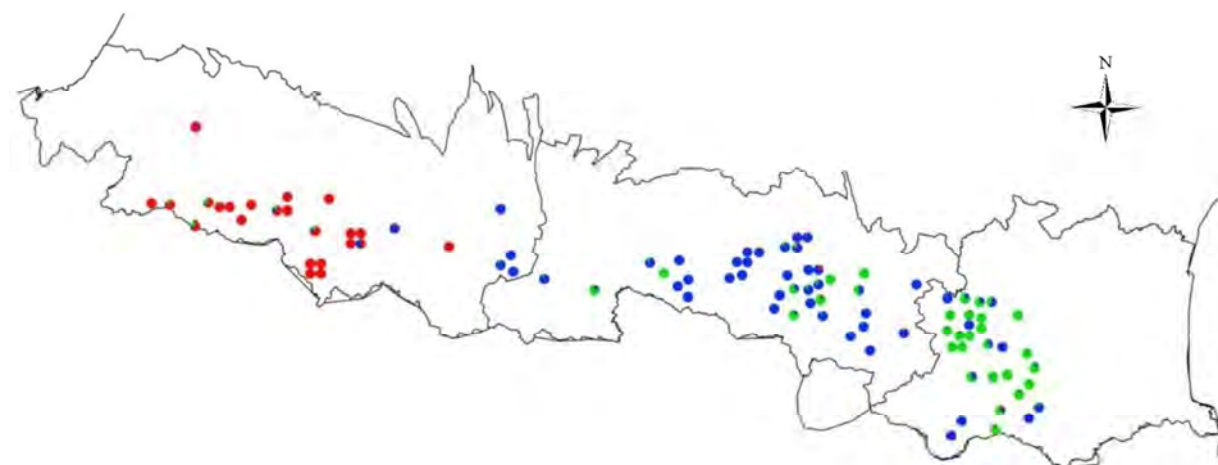


Figure 4-2 : Distribution des trois populations génétiques du desman des Pyrénées dans les trois zones hydrographiques des Pyrénées françaises : bassins de l'Adour et de la Nive à l'ouest ; bassins de la Garonne au centre ; bassins de l'Aude, du Tech et de la Têt à l'est (d'après Gillet, 2015). Les couleurs représentent les trois populations génétiques.

Pour cela, les proies présentes dans un sous-échantillon de 287 fèces collectées durant les étés 2011 à 2013 ont été utilisées. Trois régimes alimentaires différant dans leur composition globale en proies et en espèces indicatrices ont été mis en évidence. Toutefois, aucune influence régionale n'a pu être constatée puisque les trois régimes alimentaires identifiés étaient répartis indépendamment de la position géographique des sites dans les trois grandes régions hydrographiques des Pyrénées. Ce résultat exclut ainsi une sélection des proies contrastée entre les trois sous-populations de desman des Pyrénées.

Cependant, les trois régimes alimentaires du desman des Pyrénées ont été retrouvés dans des tronçons de cours d'eau différant dans leurs conditions environnementales locales (e.g. pente du cours d'eau, hétérogénéité du lit mineur, impacts humains, forêts). Ces conditions locales peuvent influencer à très fine échelle (i) les communautés d'invertébrés présents dans les rivières (e.g.

Usseglio-Polatera *et al.*, 2000b ; Reid *et al.*, 2010 ; Pallottini *et al.*, 2017) et/ou (ii) l'accès et l'utilisation du micro-habitat de chasse par le desman des Pyrénées. Une analyse descriptive de ces sites a permis de distinguer :

- un régime alimentaire présent dans des conditions typiques de têtes de bassin versant plutôt préservées (i.e. pente forte, peu d'activités humaines) favorisant la présence et la consommation par le desman des Pyrénées d'espèces sensibles (i.e. les taxons indicateurs caractéristiques de ce groupe appartenant à l'ordre des Ephemeroptera) ;
- un régime alimentaire trouvé à de plus basses altitudes (i.e. pente plus faible) dans des rivières plus impactées par les activités humaines dont le lit mineur est plus homogène ce qui limite la disponibilité en habitats de chasse. Dans ces milieux probablement moins favorables, le desman des Pyrénées pourrait plutôt se nourrir dans les zones d'accumulation de litières et le long des berges (i.e. espèces indicatrices : *Gammarus* et *Protonemura*) ;
- un régime alimentaire rencontré dans des conditions environnementales intermédiaires où un plus grand nombre d'espèces indicatrices a été identifié et qui pourraient être le reflet d'un ensemble plus hétérogène d'habitats accessibles au desman des Pyrénées pour se nourrir.

Le desman des Pyrénées semblerait donc capable d'adapter son régime alimentaire aux conditions locales de l'habitat, suggérant une stratégie alimentaire plutôt flexible. Cette flexibilité reste cependant directement liée à la disponibilité en proies potentielles dont l'abondance et la richesse peuvent être altérées par des perturbations exercées sur les milieux aquatiques (Paul & Meyer, 2001). Des études complémentaires seront donc nécessaires pour (i) clarifier le rôle de la disponibilité en proies dans le régime alimentaire et la distribution du desman des Pyrénées, et (ii) déterminer comment l'hétérogénéité des micro-habitats d'un cours d'eau peut influencer le régime alimentaire et la sélection des habitats de chasse par le desman des Pyrénées.

Les résultats de cette étude sont détaillées dans l'article scientifique « Novel insights into the diet of the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) using next-generation sequencing molecular analyses » publié dans la revue *Journal of Mammalogy*.

4.2. ARTICLE 2

Novel insights into the diet of the Pyrenean desman, *Galemys pyrenaicus*, using next-generation sequencing molecular analyses

Marjorie BIFFI¹ #, François GILLET^{2,3,4} #, Pascal LAFFAILLE¹, Fanny COLAS⁵, Stéphane AULAGNIER³, Frédéric BLANC⁴, Maxime GALAN⁶, Marie-Laure TIOUCHICHINE², Mélanie NEMOZ⁴, Laëtitia BUISSON¹, & Johan R. MICHAUX^{2,7}

co-first authors

¹EcoLab, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9, France.

²Laboratoire de Biologie Evolutive, Unité de Génétique de la Conservation, Université de Liège, Institut de Botanique B22, Quartier Vallée 1, Chemin de la Vallée 4, 4000 Liège, Belgium

³Comportement et Ecologie de la Faune Sauvage (CEFS), Institut National de la Recherche Agronomique, Université de Toulouse, CS 52627, 31326 Castanet-Tolosan Cedex, France

⁴Conservatoire d'Espaces Naturels de Midi-Pyrénées, 75 voie du Toec, BP 57611, 31076 Toulouse Cedex 3, France

⁵Irstea, équipe Freshco, UR Recover, Pôle Onema-Irstea Hydroécologie des plans d'eau, F-13182, Aix-en-Provence, France

⁶INRA, UMR1062 CBGP, 34988, Montferrier-sur-Lez, France

⁷CIRAD, Agirs Unit, TA C- 22/E- Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France

Publié dans Journal of Mammalogy.



Novel insights into the diet of the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) using next-generation sequencing molecular analyses

MARJORIE BIFFI,^{*,†} FRANÇOIS GILLET,[†] PASCAL LAFFAILLE, FANNY COLAS, STÉPHANE AULAGNIER, FRÉDÉRIC BLANC, MAXIME GALAN, MARIE-LAURE TIOUCHICHINE, MÉLANIE NÉMOZ, LAËTITIA BUISSON, AND JOHAN R. MICHAUX

EcoLab, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS, Université Paul Sabatier Bât. 4R1, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 9, France (MB, PL, LB)

Laboratoire de Biologie Evolutive, Unité de Génétique de la Conservation, Université de Liège, Institut de Botanique B22, Quartier Vallée 1, Chemin de la Vallée 4, 4000 Liège, Belgium (FG, M-LT, JRM)

Comportement et Ecologie de la Faune Sauvage (CEFS), Institut National de la Recherche Agronomique, Université de Toulouse, CS 52627, 31326 Castanet-Tolosan Cedex, France (FG, SA)

Conservatoire d'Espaces Naturels de Midi-Pyrénées, 75 voie du Toec, BP 57611, 31076 Toulouse Cedex 3, France (FG, FB, MN)
Irstea, équipe Freshco, UR Recover, Pôle AFB-Irstea Hydroécologie des plans d'eau, F-13182 Aix-en-Provence, France (FC)
INRA, UMR1062 CBGP, 34988 Montpellier-sur-Lez, France (MG)

CIRAD, Agirs Unit, TA C-22/E-Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France (JRM)

* Correspondent: m.biffi@live.fr

† Co-first authors

The Pyrenean desman, a threatened, semiaquatic mammal, is considered a specialist predator feeding on aquatic benthic invertebrates. This categorization comes from visual identification of prey in scat or gut contents, often based on a limited number of samples and locations. We combined diet analyses using next-generation sequencing methods with an extensive survey to explore the summer diet of Pyrenean desmans across the French Pyrenees. This study thus provides an unprecedented level of detail on the trophic ecology of Pyrenean desmans. Our results revealed a diverse diet containing a high proportion of rare prey and substantial consumption of terrestrial prey, which suggests a more generalist diet than previously understood. Three diet groups were identified, with significant differences in prey composition. These differences were not related to geographic location, but rather to local environmental variables. The spatial variation in diet was likely induced by local abiotic parameters that affect prey availability or use of foraging habitats.

Key words: foraging habitat, scat analysis, semiaquatic mammal, spatial structure

Knowledge of how species interact with their environment and with other organisms is required to evaluate species vulnerability (Rodrigues et al. 2006). Biotic interactions such as competition, predation, and trophic resource availability are known to play a central role in the distribution of species and their abundance (Boulangeat et al. 2012; Kissling et al. 2012) and to influence their responses to changing environments at different scales (Pearson and Dawson 2003; Araújo and Luoto 2007; Wisz et al. 2013; Belmaker et al. 2015). For instance, the decline of the Iberian lynx, *Lynx pardinus*, the world's most threatened felid, was reported to be caused by the decline of its staple prey, the European rabbit, *Oryctolagus cuniculus*

(Real et al. 2009), due to changes in environment and diseases (e.g., myxomatosis). In studies focused on single species, biotic interactions have often been overlooked due to sparse data and the difficulty of quantifying and incorporating complex relationships between organisms (Soberón and Peterson 2005). This is particularly true when the species of interest is rare and elusive, and thus difficult to study.

The Pyrenean desman, *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811), is a small, semiaquatic mammal (Talpidae) endemic to the Pyrenees Mountains (France, Spain, and Andorra) and the Iberian Peninsula (northern and central Spain, northern Portugal). The species is listed as vulnerable

by the IUCN (Fernandes et al. 2008) and is legally protected in the 4 countries encompassing its distributional area. For a long time, the Pyrenean desman remained relatively unstudied, while also suffering a substantial decline across its range (Fernandes et al. 2008; Gisbert and García-Perea 2014; Charbonnel et al. 2016). Although recent studies have improved general knowledge about this species (e.g., habitat—Charbonnel et al. 2015 and Biffi et al. 2016; space use—Melero et al. 2012, 2014; population genetics—Gillet et al. 2015, 2016), a lack of information on biotic interactions, both with predators and trophic resources, remains to be supplemented.

To study the diet of small mammals, morphological identification of prey remains has been widely used (e.g., Castién and Gosálbez 1999; Churchfield and Rychlik 2006). With these methods, the Pyrenean desman was considered a specialist predator that fed on benthic invertebrates in streams (mainly Trichoptera, Ephemeroptera, Plecoptera, or Diptera—e.g., Santamarina and Guitian 1988; Santamarina 1993; Bertrand 1994; Castién and Gosálbez 1995).

Even though traditional methods enable the identification of a wide variety of prey, they are becoming less and less popular because 1) analyses of gut contents often involve the destruction of animals, 2) degraded prey remains cannot be identified with precision (rarely beyond the family level), 3) they underestimate the consumption of prey that are thoroughly masticated (e.g., arthropods consumed by bats) and soft-bodied prey (e.g., molluscs and earthworms) that leave no hard remains after digestion, and 4) they are time-consuming and require expert knowledge of the range of potential prey, and the ability to identify prey taxa based on small fragments of bone, hair, feathers, scales, exoskeletons, or other nondigested parts, particularly in analyses of scats (feces). The recent development of molecular analyses based on barcoding of fecal DNA fragments and next-generation sequencing has overcome these difficulties (see a review by Pompanon et al. 2012).

In that context, the first aim of this study was to improve knowledge of the trophic ecology of the Pyrenean desman by combining next-generation molecular analyses and extensive sampling covering the species range throughout the French Pyrenees. Gillet (2015) recently identified 3 genetic populations of Pyrenean desmans using different habitats (Biffi et al. 2016) in the 3 main hydrographic regions of the area. The second aim of the study was to compare the diet of Pyrenean desmans in those 3 regions. We hypothesized that the diet would vary according to the 3 hydrographic regions of the French Pyrenees, which differ in terms of catchment surface, climate, elevation, and type of land cover.

MATERIALS AND METHODS

Study Area

The Pyrenees Mountains are located in southwestern Europe and are a natural barrier between France and Spain. This study focused on the French part of the Pyrenees (W1°400–E3°100, N43°080–N42°230; Fig. 1), which extends for about 400 km from the Bay of Biscay to the Mediterranean Sea and has a maximum elevation of 3,298 m. The stream network can be divided

into 3 main hydrographic regions: 1) the western streams that flow mostly westward to the Atlantic Ocean (coastal streams and Adour catchment; 9,412 km² in the Pyrenees), 2) the central streams that flow mainly northward and form the upstream part of the Garonne river catchment (7,702 km² in the Pyrenees), and 3) the eastern streams that flow to the Mediterranean Sea (Aude, Tech, and Têt catchments; 6,773 km² in the Pyrenees).

Feces Collection

A national survey was conducted from 2011 to 2013 within the framework of the Conservation Action Plan for the Pyrenean desman (Némoz et al. 2011). Given the elusive behavior of this species, searches for indirect signs (i.e., feces) were conducted in 1,330 sites covering the entire French Pyrenees (Fig. 1A). Skilled observers meticulously inspected each emergent item (i.e., rock, tree root, and branch) along 500-m riverbed transects (Castién and Gosálbez 1992; Bertrand 1994; Aymerich and Gosálbez 2002; Charbonnel et al. 2014, 2015; Biffi et al. 2016). From the 1,330 original sites, 989 feces suspected of being left by a Pyrenean desman, based on their color, size, smell, and position, were collected in 958 sites and preserved in absolute ethanol for further molecular analyses.

Molecular Analyses

DNA was extracted from feces using the Stool Mini Kit (Qiagen Inc., Hilden, Germany), following the manufacturer's instructions. PCR amplifications and Ion Torrent PGM sequencing (Life Technologies, Carlsbad, California) were duplicated on the 989 fecal samples following the tagging and multiplexing method developed by Galan et al. (2012). Briefly, a 133 bp mini-barcode of the cytochrome oxidase I gene (COI) was amplified for each sample using a modified forward primer LepF1 (Hebert et al. 2004): 5'-CCATCTCATCCCTGCGTGTC TCCGACTCAGNNNNNNNATTCHACDAAYCAY AARGAYATYGG-3', and a modified reverse primer EPT-long-univR (Hajibabaei et al. 2011): 5'-CCTCTCTATGGGCAG TCGGTGATNNNNNNNACTATAAAARAAAATYT DAYAAADGCRGTG-3'. The 5' parts of the primers were modified by the addition of individual-specific MIDs (Multiplex Identifiers NNNNNNN), consisting of a short 7 bp sequence and adaptors required for emPCR and Ion Torrent sequencing. By using a combination of different forward and reverse MIDs sequences, several hundred samples can be multiplexed in the same sequencing run, and the sequences can be recognized after sequencing, when all the PCR products from the different samples are mixed together (Gillet et al. 2015).

PCRs were carried out in a 10- μ l reaction volume using 5 μ l of 2 \times QIAGEN Multiplex Kit (Qiagen), 0.5 μ M of each primer (LepF1 and EPT-long-univR, concentrated at 10 μ M), and 1 μ l of DNA extract. The PCR conditions consisted of an initial denaturation step at 95°C for 15 min, followed by 40 cycles of denaturation at 94°C for 30 s, annealing at 45°C for 45 s, and extension at 72°C for 30 s, followed by a final extension step at 72°C for 10 min. After pooling all PCR products at 5 ng/ μ l, the amplicon libraries were sequenced by the company Genes Diffusion (Douai, France) on an Ion Torrent PGM system using an Ion 316 Chip version 2 (Life Technologies).

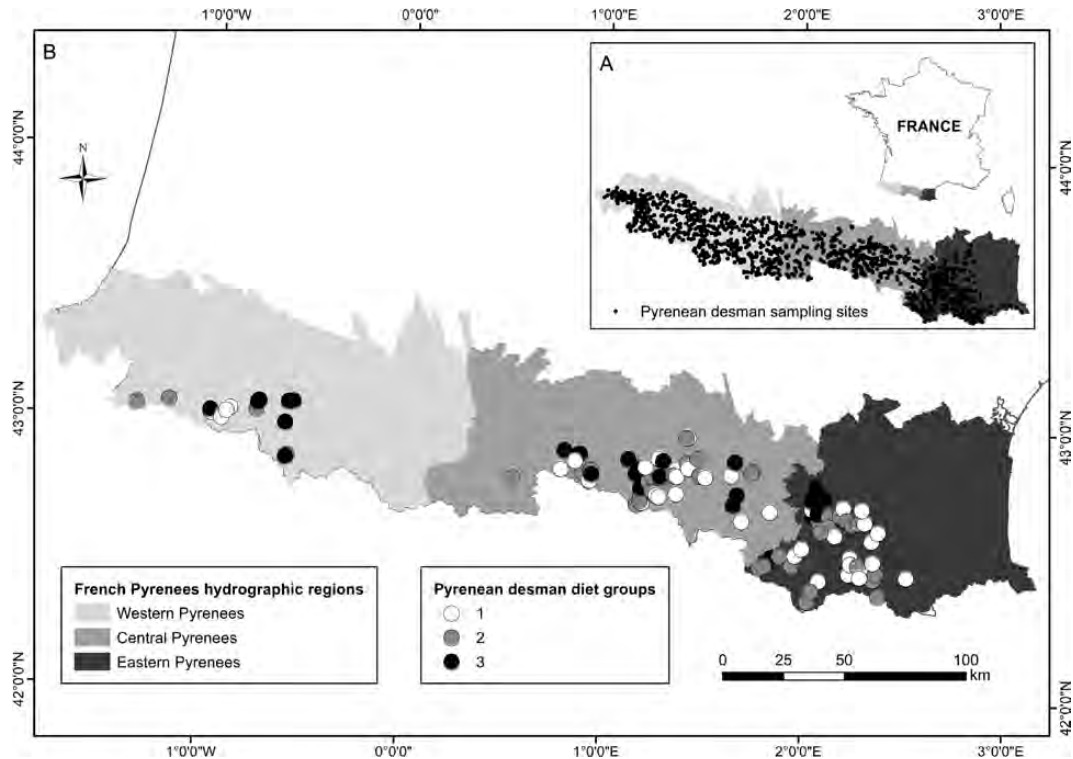


Fig. 1.—Location of the study area in France. The 3 hydrographic regions of interest are shown in light gray (western region: coastal streams and Adour catchment), medium gray (central region: Garonne river catchment), and dark gray (eastern region: Aude, Tech, and Têt catchments). A) Location of all sampling sites (dark dots). B) Location of sampling sites according to the 3 summer diet groups for the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*).

In addition, a customized database of COI sequences was built from 84 typical invertebrate species from the study area collected in some Pyrenean rivers and identified by local entomologist experts from the Conservatoire d'Espaces Naturels Midi-Pyrénées (CEN MP) and the EcoLab laboratory of Toulouse. A 710 bp fragment of COI was amplified in these samples with universal primers LCO1490 and HCO2198 (Folmer et al. 1994), following the PCR conditions reported in Folmer et al. (1994).

The sequences were sorted using SESAME barcode software (SEquence Sorter and AMplicon Explorer—Piry et al. 2012). These sequences were compared with sequences available in the customized and BOLD databases (Ratnasingham and Hebert 2007). Sequences that had a unique best-hit with an identity score greater than or equal to 98% were considered to be positive matches and allowed identification of the predator producing the feces as well as the prey contained in them.

Taxa were validated as possibly occurring in France and in the Pyrenees region using the French National Inventory of Natural Heritage (Muséum National d'Histoire Naturelle 2003–2017), the French Office for Insects and their Environment (OPIE-Benthos 2017) online databases, and the help of local experts. Taxa identified as endemic to other parts of the world were kept in the analysis and are designated by an asterisk hereafter (*), as they correspond more likely to a genetically similar taxon present in the Pyrenees but not available in the reference databases.

The frequency of occurrence (i.e., the number of feces containing the taxon divided by the total number of Pyrenean desman feces) in the diet of Pyrenean desmans was then calculated for each order, family, and genus, and for the different modes

of life of prey taxa (i.e., exclusively aquatic, exclusively terrestrial, or with aquatic and terrestrial stages).

Summer Diet of Pyrenean Desmans

To investigate potential spatial structure in the diet of Pyrenean desmans, 287 Pyrenean desman feces collected at 115 sampling sites were kept for statistical analysis. This strong reduction in the number of feces compared to the initial pool of feces ($n = 989$) was due to drastic selection following 3 criteria: 1) the predator producing the feces was identified by molecular analyses, 2) the prey contained in the feces were identified by molecular analyses, and 3) the feces were collected during summer (i.e., June to September) in order to prevent potential strong seasonal variation. The summer season was chosen as most samplings were conducted during this low-flow period between 2011 and 2013. Prey occurrences were not different between the 3 summers of sampling, as revealed by a nonparametric permutation-based multivariate analysis of variance (PERMANOVA—Anderson 2001), which was not significant ($P = 0.12$). To correct for potential sampling bias (i.e., more than 1 feces collected per site), all the feces collected in a single site were pooled. Consequently, a taxon was assumed to be present in the diet of Pyrenean desmans at a site if it was found in at least 50% of the feces collected for this site. All prey taxa were kept for subsequent analysis.

Cluster analysis and identification of summer diet groups.

The binary matrix (i.e., presence–absence of prey genera at each site) was converted to a distance matrix calculated with the Sørensen similarity coefficient, which is the equivalent of Bray-Curtis distance but for presence–absence instead of

abundance data (Borcard et al. 2011). Then, a hierarchical ascendant clustering was computed with Ward's algorithm to build a dendrogram representing the distance between each pair of sites according to their similarity in the summer diet of Pyrenean desmans (i.e., prey taxa genetically identified in feces). The number of diet groups was chosen according to the dendrogram, so that it increases the variation between groups and decreases the variation within groups while keeping a relatively balanced number of sites within groups.

The mean composition of prey communities within sites was compared among the 3 diet groups using a PERMANOVA (Anderson 2001). As PERMANOVA may be sensitive to within-group effects, PERMDISP (Anderson et al. 2006), a permutation dispersion analysis, was then used to test for differences in within-group dissimilarity (i.e., the variability of diet composition within the groups as the mean distance of diet compositions to their group centroid). When the PERMDISP test was significant, a pairwise Tukey HSD test was run to examine which of the diet groups had higher dispersion. The Sørensen matrix was used as the measure of similarity in both PERMANOVA and PERMDISP.

To identify the prey taxa specific to each diet group, an indicator value (IndVal) analysis was performed (Dufrene and Legendre 1997; Cáceres and Legendre 2009) using the occurrence matrix of the summer prey taxa and the classification of sites in diet groups obtained through the hierarchical clustering. The IndVal is the product of the specificity (i.e., the probability that the survey site belongs to the target site group, given the fact that the species has been found) and the fidelity (i.e., the probability of finding the species in sites belonging to the site group) of species for each cluster. A taxon was only able to be a potential indicator of 1 diet group, as group combinations were not allowed. The IndVal statistical significance was tested using a permutation test (9,999 permutations) for each prey taxon.

Finally, a chi-squared test was performed to test whether the assignment of sites to the 3 diet groups according to prey

community composition found in feces was dependent on their location in the 3 hydrographic regions of the French Pyrenees.

Comparison of environmental parameters among diet groups.—To investigate potential local constraints that could influence the diet of Pyrenean desmans during the summer, a linear discriminant analysis (LDA) was performed on a set of 12 environmental variables that described local habitat conditions at the site (Biffi et al. 2016) and reach scales (i.e., stream reaches of approximately 1 km long—Charbonnel et al. 2016) in each diet group (see Table 1 for a complete description). These variables were expected to influence most invertebrate communities in mountain streams (Tachet et al. 2000; Usseglio-Polatera et al. 2000). This multivariate statistical method searches for linear combinations of quantitative variables (i.e., environmental variables) that maximize intergroup variance (i.e., diet groups). Significance of the LDA was tested using a Monte-Carlo test (9,999 permutations).

All statistical analyses were conducted in R 3.1.1 (R Development Core Team 2014) using the *ade4*, *vegan*, and *indicspecies* packages.

RESULTS

Molecular identification of the predator producing the feces and contents.—After the 2 PCR amplifications, a total of 9,489,679 reads were obtained, among which 2,962,289 were correctly assigned to 560 of the 989 analyzed samples (57%), after removing singleton sequences that were likely to be PCR or sequencing errors from the dataset. Among them, 390 samples (2,695,260 reads; 90%) belonged to the Pyrenean desman, whereas the remaining 170 samples (267,029 reads) were assigned to 25 other host species, including 7 birds (e.g., *Turdus*) and 14 mammals (e.g., *Neomys* sp., *Glis glis*). Among the 390 samples assigned to Pyrenean desmans, 383 samples also

Table 1.—Environmental variables (Biffi et al. 2016; Charbonnel et al. 2016) expected to influence the prey composition of diet groups of Pyrenean desmans (*Galemys pyrenaicus*) in the French Pyrenees.

Scale	Category	Code	Description
Site	Riverbed	SHELTER	Proportion (%) of the heterogeneity at the site comprised of shelters and substrate (i.e., presence of emerging items and cavities, diversity of substrate types, and banks components) as a proxy for riverbed heterogeneity
		CLOG	Proportion (%) of the surface of streambed rocks covered by fine sediment (silt and mud)
		SHEET	Proportion (%) of the site with nonturbulent fast water units of shallow water that flows uniformly over smooth bedrock
		RUN	Proportion (%) of the site with nonturbulent fast water units of shallow gradient with relatively fine substrata ranging from sand to cobble
		RIFFLE	Proportion (%) of the site with turbulent fast water units with rapid and shallow flow with steep water surface gradient
Reach	Riverbanks	BANKS	Shannon's diversity index derived from the proportion (%) of banks type components along the site (DIRT, ROOTS, ROCKS)
		WOOD	Proportion (%) of bankside with shrubby-woody vegetation
	Floodplain	HUM_IMP	Proportion (%) of urbanized land within the site floodplain as a proxy for human impacts
	Climate	TEM	Atmospheric mean annual temperature (°C)
	Hydrology	FLO	Mean monthly stream flow (m ³ /s)
	Hydrography	SLO	Mean slope of the river section (%)
		TRI	Number of tributaries in the focal section and in its adjacent upstream and downstream sections

provided information on prey content (representing 37% of the reads), including 287 desman feces collected during the summer.

The proportion of items obtained twice in the PCR duplicates for the same DNA extract was computed as the percentage of repeatability. Repeatability of the results reached 99% when only host species were considered, 83% when only prey species were considered, and 87% when all species were considered.

Overall diversity of prey contained in the feces of Pyrenean desmans.—The 383 Pyrenean desman feces collected between 2011 and 2013 contained prey belonging to 11 classes, 30 orders (Table 2), 91 families, and 156 genera (Supplementary Data SD1). A mean of 5.8 ± 2.0 genera were present per feces (5.1 ± 1.9 and 3.7 ± 1.2 for family and order, respectively). Among the 156 genera, 100 were confirmed to be present in the Pyrenees, 31 in France, and 21 were endemic to other parts of the World (e.g., New Zealand, Australia) and were thus misidentified by genetic databases. The presence in the Pyrenees of the 4 additional genera remains unknown. For 1 taxon, databases were not able to discriminate between 2 macroinvertebrate genera and families (designated hereafter as “*Perlodes_Epeorus**” at the genus level).

The diet of Pyrenean desmans was mainly composed of Insecta and Malacostraca, which were present in 99.7% and 18.0% of the 383 feces, respectively (Table 2). Other classes were present in less than 4% of the Pyrenean desman feces (e.g., Diplopoda, Lissamphibia, Arachnida, Clitellata, Gastropoda). Only 7 orders (23.3%), 14 families (15.4%), and 14 genera (9.0%) had a frequency of occurrence in the feces above 10%, meaning that the majority of prey taxa were found in less than 10% of the feces. The most frequent order was Ephemeroptera (86.7%), which included the most frequent family, Heptageniidae (59.0%), and the most frequent genus, *Baetis* (Baetidae, 56.4%; Supplementary Data SD1).

Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera (EPT) together represented on average 79.1% of the identified genera in each feces. However, when considering the total number of identified taxa (TIT) in the overall diet of Pyrenean desmans, EPT orders represented only 28.2% of identified prey. Exclusively aquatic items represented 4.1% of prey (versus 7.7% of TIT), whereas exclusively terrestrial prey represented 7.7% of prey (versus 36.5% TIT). Taxa with at least 1 aquatic stage and 1 terrestrial stage represented 88.3% of prey (versus 55.8% TIT).

Variation of summer diet across the French Pyrenees.—When considering the summer months (i.e., June to September), analyses were limited to 287 feces collected from 115 sites. From these feces, 91 prey genera were kept to study possible spatial variation in the summer diet of Pyrenean desmans. Hierarchical ascendant clustering made it possible to identify 3 distinct diet groups of sites (with 39, 48, and 28 sites, respectively) based on prey assemblage (Fig. 2). There was no significant difference ($\chi^2_2 = 4.05$, $P = 0.13$) between the number of samples collected per site and its classification by cluster analysis (i.e., diet group), excluding potential bias due to diet profiles merging. Prey composition was closer between Groups 1 and 2 than with Group 3. Within-site prey composition differed significantly among groups (PERMANOVA: $F_{2,112} = 7.19$, $P < 0.01$; Fig. 3).

Table 2.—Prey taxa identified with positive matches ($\geq 98\%$) from 383 feces of Pyrenean desmans (*Galemys pyrenaicus*) collected in the French Pyrenees. Frequencies of occurrence (FO: % of feces containing the prey) are displayed. See Supplementary Data SD1 for the complete list of taxa at a finer taxonomic resolution (family and genus).

Class	FO (%)	Order	FO (%)
Insecta	99.7	Ephemeroptera	86.7
		Plecoptera	84.9
		Trichoptera	64
		Diptera	45.7
		Plecoptera_	30.8
		Ephemeroptera*	
		Coleoptera	14.1
		Orthoptera	6.5
		Neuroptera	1.8
		Hemiptera	1.3
		Lepidoptera	1.0
		Odonata	0.5
		Hymenoptera	0.3
		Amphipoda	16.7
Malacostraca	18	Isopoda	1.6
		Decapoda	0.3
		Glomerida	2.4
Diplopoda	3.7	Polydesmida	0.8
		Julida	0.5
		Chordeumatida	0.3
Lissamphibia	2.9	Urodeles	2.9
Arachnida	2.4	Araneae	0.8
		Opiliones	0.5
		Sarcoptiformes	0.5
		Trombidiformes	0.5
		Haplotaxida	0.5
Clitellata	0.5	Entomobryomorpha	0.3
Collembola	0.3	Bdelloidea	0.3
Eurotatoria	0.3	Parachela	0.3
Eutardigrada	0.3	Littorinimorpha	0.3
Gastropoda	0.3		0.3
Unidentified fish			0.5

*Taxa misidentified by genetic databases.

The dissimilarity of prey assemblages among sites similarly differed by diet group (PERMDISP: $F_{2,112} = 3.28$, $P < 0.05$) and was driven by slightly lower among-site variability in Group 3 than in Group 2 (Tukey HSD: $P = 0.045$). There was no significant difference in among-site variability between Groups 1 and 2, and Groups 1 and 3 (Tukey HSD: $P > 0.05$).

Diet Group 3 exhibited the least diverse prey assemblage, with 45 different invertebrate genera consumed by Pyrenean desmans, versus 51 in Group 1 and 57 in Group 2. Only 21 genera were consumed in all 3 groups. Eleven significant indicator taxa were identified for the 3 summer diet groups of Pyrenean desmans ($P < 0.05$; Table 3; Fig. 3). Group 2 was characterized by 3 Ephemeroptera taxa, whereas the indicator taxa of Group 1 and Group 3 were more diverse (Trichoptera, Plecoptera, Diptera, and Ephemeroptera for Group 1 and Amphipoda, Plecoptera, and Diptera for Group 3; Table 3). The differences in diet composition were not significantly related to the geographical location of sites within the 3 hydrographic regions of the French Pyrenees ($\chi^2_4 = 5.93$, $P = 0.20$; Fig. 1B).

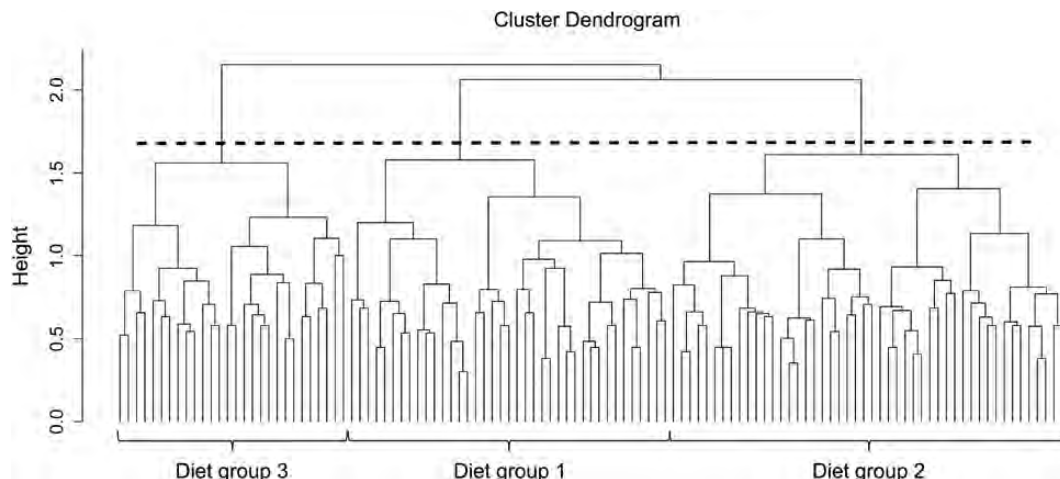


Fig. 2.—Hierarchical clustering dendrogram of Sørensen distances between the sampling sites according to their similarity in the summer diet (i.e., 91 prey taxa genetically identified in feces) of Pyrenean desmans (*Galemys pyrenaicus*). Three diet groups are identified.

Linear discriminant analysis computed 2 significant functions, F1 and F2 (Monte-Carlo test: $P = 0.001$), accounting for 60.8% and 39.2% of the variability between the 3 diet groups, respectively (Fig. 4). The first function, F1, separated Group 3 from the 2 other groups, whereas the second function, F2, separated Group 2 from Groups 1 and 3. The environmental variables discriminating the 3 diet groups were 1) SHELTER (i.e., proxy for riverbed heterogeneity) and SLO (i.e., slope of river section), which were positively correlated with F1; 2) WOOD (i.e., proportion of bankside with shrubby-woody vegetation), which was negatively correlated with F1; 3) HUM_IMP (i.e., proxy for human impacts), which was positively correlated with F2; and 4) SHEET (i.e., proportion of the stretch with nonturbulent fast water units of shallow water that flows uniformly over smooth bedrock) and TRI (i.e., number of tributaries), which were negatively correlated with F2 (Fig. 4). This suggests that on average, the sites in Group 3 exhibited lower slopes, less heterogeneous riverbeds, and wooded riverbanks (Table 4). Group 2 clustered sites with low human impact along the near floodplain. The sites in Group 1 showed intermediate local environmental conditions (Table 4).

DISCUSSION

Next-generation sequencing as a powerful tool for studying the diet of Pyrenean desmans.—The amplification of a COI mini-barcode successfully identified the Pyrenean desman and its prey species, as well as several other host species, in 57% of fecal samples. This confirms the relevance of using such a genetic marker with next-generation sequencing methods in diet assessments (Pompanon et al. 2012; Piñol et al. 2014; Gillet et al. 2015) without the need for predator-specific blocking probes. The remaining 43% of the samples could not be correctly assigned. According to McInnes et al. (2017), results are highly dependent on freshness and size of fecal samples. Small feces such as those of the Pyrenean desman (10–15 mm long) contain small amounts of DNA, and the limited amount

of DNA also affects the reproducibility of the extraction step, since the entire feces has to be used. Moreover, DNA is rapidly degraded by contact with water and UV radiation (Lindahl 1993).

In spite of these shortcomings, molecular analysis allowed the identification of 156 different invertebrate genera across the French Pyrenees. These genera belonged to 30 orders and 91 families, of which almost 70 were identified as prey of Pyrenean desmans for the first time. Using traditional methods of fecal analysis, Bertrand (1994) identified only 20 families from an extensive sampling of 521 feces collected in 2 small French catchments. In Northern Spain, Castián and Gosálbez (1995) trapped 49 desmans throughout the year and were able to identify only 11 orders as the lowest taxonomic level. The present study is therefore the most extensive ever done on the diet of this species in terms of number of samples, geographic coverage, and taxonomic resolution altogether. The high number of newly identified prey emphasizes the efficiency of molecular analysis in detecting taxa that are difficult to identify in feces through morphological analysis and highlights the Pyrenean desman's capacity to adapt to its trophic environment. Nevertheless, some taxa identified, such as Collembola, Eurotatoria, and Eutardigrada, are unlikely to be direct prey of the Pyrenean desman, as they are part of the soil microfauna or aquatic zooplankton. Other taxa, such as *Sargus* and small Coleoptera, may develop at the larval stage or feed on scat and may have thus been collected with the feces. The high sensitivity of next-generation sequencing methods means that secondary predation can sometimes be included in the results (Sheppard et al. 2005). Molecular diet analyses also are limited by deficiencies in the reference databases: a taxon can be identified at the species (or genus) level only if it has already been sequenced (Pompanon et al. 2012). In our study, 21 prey species were endemic to other parts of the world and were thus misidentified. Inventories of genetic biodiversity will become increasingly valuable as molecular analyses find new applications in studies of ecology and conservation. Recently, the use of COI markers led to some concerns in metabarcoding studies

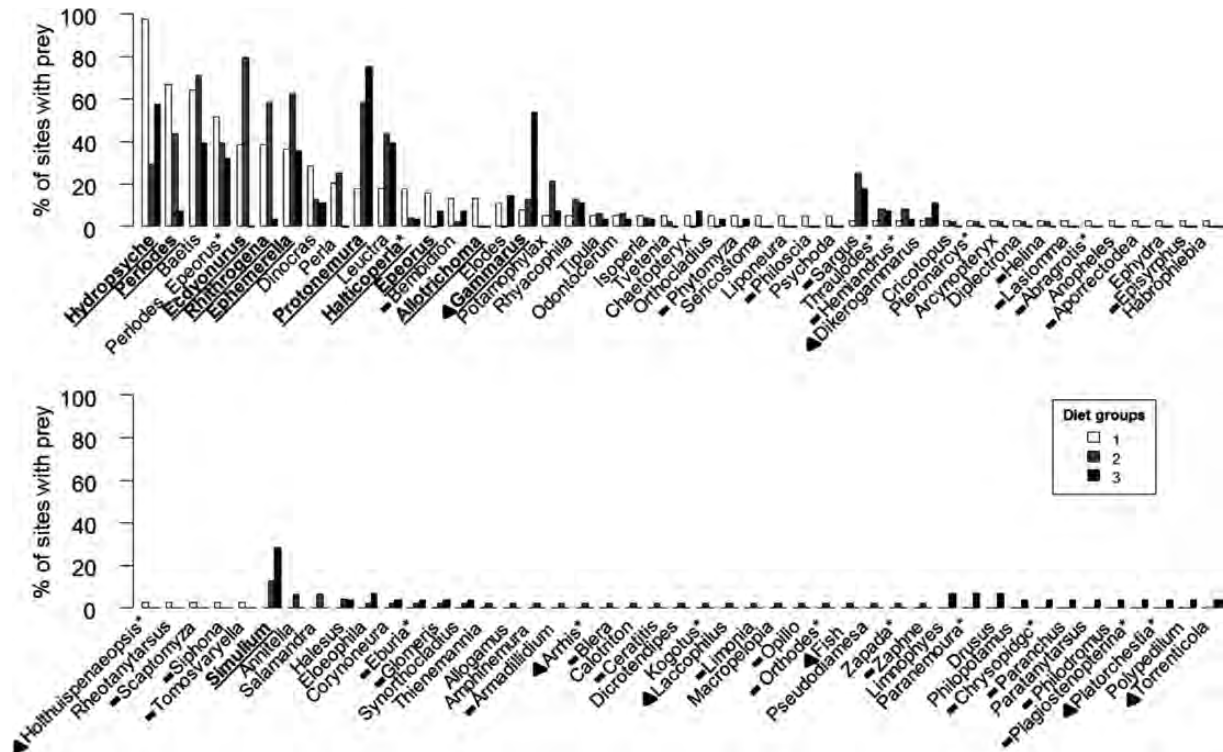


Fig. 3.—Prey composition of the 3 groups of sampling sites based on summer diet composition (% of sites with prey) of Pyrenean desmans (*Galemys pyrenaicus*). The diet groups were determined from a hierarchical ascendant clustering based on a Sørensen distance matrix of presence-absence of prey genera per site (see Fig. 1). Prey are sorted by decreasing proportion in the first group of sites. *Prey taxa that were misidentified by the genetic databases. Indicator taxa for diet groups are identified in bold and underlined characters (see Table 3 for details). Habitat type of taxa is given (black triangles: exclusively aquatic; black rectangles: exclusively terrestrial; no symbol: with aquatic and terrestrial stages).

Table 3.—Significant indicator prey taxa ($P < 0.05$) of the 3 summer diet groups of Pyrenean desmans (*Galemys pyrenaicus*) in the French Pyrenees identified by an IndVal analysis.

Groups	Indicator taxa		IndVal index	P-value
	Order	Genus		
1	Trichoptera	<i>Hydropsyche</i>	0.72	0.0001
	Plecoptera	<i>Perlodes</i>	0.62	0.0001
	Diptera	<i>Allotrichoma</i>	0.36	0.0035
	Plecoptera	<i>Halticoperla</i> *	0.35	0.0289
	Ephemeroptera	<i>Epeorus</i>	0.32	0.0488
2	Ephemeroptera	<i>Ecdyonurus</i>	0.73	0.0001
	Ephemeroptera	<i>Rhithrogena</i>	0.58	0.0008
	Ephemeroptera	<i>Ephemerella</i>	0.54	0.02
	Amphipoda	<i>Gammarus</i>	0.62	0.0001
3	Plecoptera	<i>Protonemura</i>	0.61	0.0003
	Diptera	<i>Simulium</i>	0.45	0.0023

*Taxa misidentified by genetic databases.

(see Deagle et al. 2014) using environmental DNA or bulk biodiversity samples. However, in this study, we used only samples that belonged to previously identified species. Some taxa could still not have been discovered but as we specifically designed the primers and, in sight of the number of genera found among prey, we are confident that the number of missing taxa is very low.

Diversity of prey in the diet of Pyrenean desmans.—The Pyrenean desman has been described as a specialist predator

targeting prey in aquatic environments (e.g., Bertrand 1994; Castián and Gosálbez 1995). In this study, we confirmed that dietary preferences seem to be directed toward Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera. However, the wide variety of prey identified suggests a more generalist diet for Pyrenean desmans. First, 91% of taxa were identified in less than 10% of the sites, representing a very high proportion of infrequent prey. Second, the most frequent prey (e.g., *Baetis*, *Protonemura*, and *Rhithrogena*) are among the most abundant aquatic

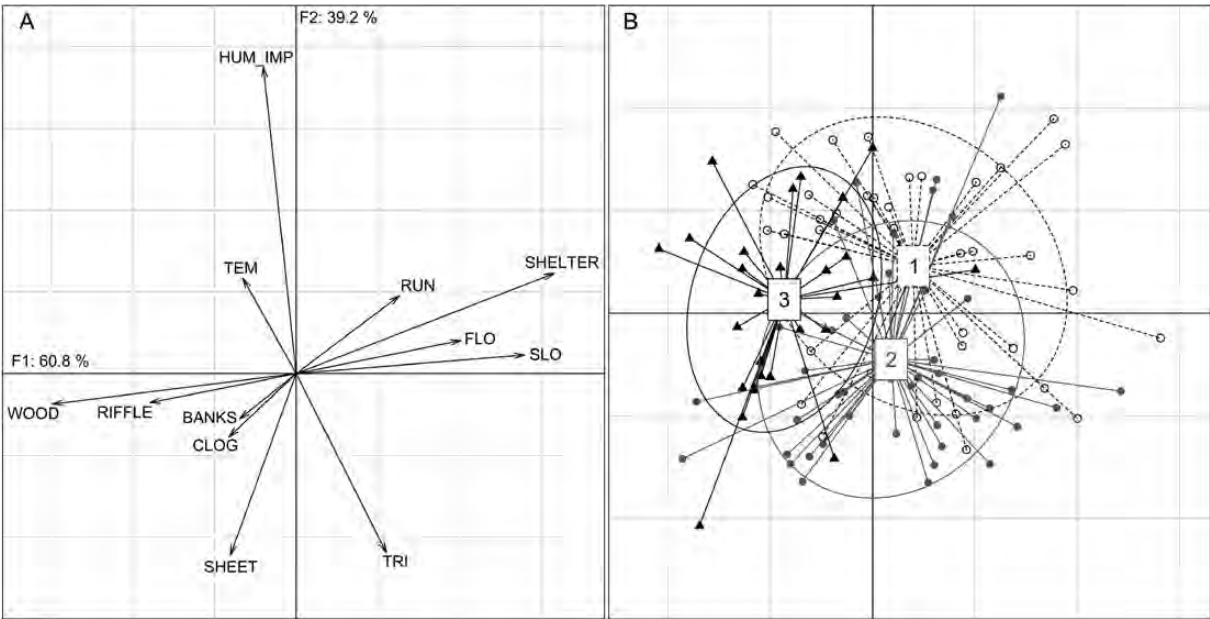


Fig. 4.—Output of the linear discriminant analysis using environmental variables to distinguish local habitat conditions in each diet group. The projection onto the first 2 linear discriminants is displayed: A) 12 environmental variables; B) sites clustered by diet groups. See Table 1 for description of variables.

Table 4.—Mean and SD of values for the 12 environmental variables used to discriminate the 3 summer diet groups of Pyrenean desmans (*Galemys pyrenaicus*) in the French Pyrenees. SHELTER through HUM_IMP (except BANKS) are given as proportions (%); BANKS is given as values of Shannon’s diversity index; TEM is given in °C; FLO is given in m³/s; SLO is given in percentage of slope; TRI is given in number of stream tributaries. See Table 1 for description of variables and their measurement.

Environmental variables	Groups		
	1	2	3
SHELTER	74.42 ± 18.33	67.79 ± 17.16	59.42 ± 21.76
CLOG	11.89 ± 12.61	15.43 ± 16.79	19.71 ± 16.23
SHEET	4.81 ± 6.20	6.60 ± 11.08	4.64 ± 5.12
RUN	23.39 ± 16.04	20.75 ± 11.91	21.24 ± 12.77
RIFFLE	35.77 ± 23.52	37.26 ± 18.82	44.43 ± 22.60
BANKS	0.35 ± 0.25	0.47 ± 0.23	0.52 ± 0.28
WOOD	50.50 ± 23.03	44.51 ± 17.63	53.47 ± 17.74
HUM_IMP	28.79 ± 29.69	9.29 ± 17.49	19.79 ± 20.64
TEM	9.70 ± 1.93	8.94 ± 1.73	10.34 ± 1.48
FLO	1.32 ± 1.87	0.68 ± 0.83	1.27 ± 1.64
SLO	8.78 ± 8.35	10.79 ± 8.91	8.07 ± 10.54
TRI	3.31 ± 2.13	3.42 ± 1.93	2.68 ± 1.19

macroinvertebrates in the Pyrenees (e.g., Brown et al. 2006; Finn et al. 2013). Third, strictly terrestrial prey represent about 8% of the prey identified in each feces and more than 35% of all identified prey taxa. This substantial percentage of terrestrial invertebrate consumption may result from 1) active hunting for terrestrial prey, 2) opportunistic feeding on terrestrial prey while moving on the banks, or 3) consumption of drowned terrestrial invertebrates. Other aquatic (e.g., brown trout, *Salmo trutta*) and semiaquatic (e.g., European otter, *Lutra lutra*) species are known to rely to some extent on a pool of alternative prey including terrestrial subsidies to fulfil their energetic needs (Clavero et al. 2003; Evangelista et al. 2014; Milardi et al. 2016). This diversification of diet may be linked to aquatic stressors (e.g., pollution) or seasonal effects (e.g., variation of climatic conditions

and water flow) that limit or modify in situ aquatic communities (Clavero et al. 2003; Kraus et al. 2016; Milardi et al. 2016). The highly diverse summer diet of Pyrenean desmans could thus be considered here, as for the otter, a response to summer drought conditions (Ruiz-Olmo et al. 2001). Indeed, during the summer period, most aquatic insects have already emerged in mountain streams (Füreder et al. 2004) or occur in small-sized life stages, especially Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera, which induces a potential diversification of the prey of Pyrenean desmans towards an increasing number of alternative aquatic and terrestrial food items. The diet of desmans would be less diverse, with less abundant terrestrial prey, during other seasons. Confirmation of this prediction requires additional seasonal surveys. Such temporal surveys should be combined with

standardized sampling of both terrestrial and aquatic potential prey on river banks and in streams to get a quantitative assessment of the trophic resources available for Pyrenean desmans and therefore better understand its feeding behavior.

Spatial variation in the diet of Pyrenean desmans and the influence of the environment.—While accounting only for the most common prey consumed during the summer by Pyrenean desmans, 3 different diets were identified in the French Pyrenees according to prey composition and indicator prey taxa. There was no major regional influence from the 3 main hydrographic regions of the French Pyrenees, despite differing environmental conditions from the western wet Atlantic area to the eastern dry Mediterranean. This result does not support our assumption that the diet of the Pyrenean desman would differ according to the genetic populations identified by Gillet (2015) or to the different habitat use reported by Biffi et al. (2016).

However, sites grouped within the 3 Pyrenean desman diets exhibited differences in environmental variables, suggesting some influence at the site scale. Group 2 diet sites exhibited conditions typical of upstream parts of river basins with higher reach slope and lower impact from human activities (i.e., urbanization). At the opposite end, the Group 3 diet clustered lower-altitude sites (e.g., low slope of river stretches) with quite high levels of human impact on the near floodplain. These sites also included more homogeneous riverbeds.

First, the difference in prey composition among groups could be explained by the local availability of prey, which is dependent on fine-scale environmental conditions. The abundance and richness of aquatic macroinvertebrates are directly dependent on local habitat conditions, such as 1) human-induced pollution (e.g., near agricultural or urban areas), which impacts water quality (e.g., Johnson et al. 2013; Pallottini et al. 2017); 2) heterogeneity of substrate types and emerging items, which provides different types of microhabitat in streams (Reid et al. 2010); 3) water current and oxygenation (Tachet et al. 2000; Usseglio-Polatera et al. 2000), which are influenced by the slope of river reaches; and 4) small-scale climate variables, which can modify the period of invertebrate emergence and their availability in streams (e.g., Füreder et al. 2004). Such diet adaptation to site-scale differences in resource availability would suggest an opportunistic and flexible foraging strategy for the Pyrenean desman.

Secondly, the availability of foraging habitats for Pyrenean desmans could be constrained by local physical features. The species would thus feed on the fauna that is present in the microhabitats of streams it can access. For instance, in sites of diet Group 3 where riverbeds are the most homogeneous, the Pyrenean desman may forage on the littoral margins, whereas it may have access to a more diverse choice of microhabitats and prey in sites of diet Groups 1 and 2, where riverbeds are more heterogeneous. This assumption is corroborated by the indicator species identified for each diet. Indicator species of Group 3, such as *Gammarus* and *Protonemura*, can be found in zones of plant and organic debris accumulation (i.e., litter) and dense root hairs, which are typical of low-slope areas along

riverbanks (Tachet et al. 2000; Usseglio-Polatera et al. 2000). Indicator species of Group 2 are Ephemeroptera taxa sensitive to water quality. This is consistent with the apparently less-disturbed environmental conditions of these sites, which also provide higher water velocity (i.e., higher slopes) in more open areas (i.e., higher altitude). These local conditions make possible the development of biofilms, which are important food resources for scraper taxa such as *Ecdyonurus*. The intermediate environmental conditions of Group 1 likely induced a higher diversity of indicator taxa, which may reflect a more heterogeneous set of habitats.

Conclusion and Perspectives.—This study reveals that Pyrenean desmans adopt a more generalist foraging strategy than previously reported. Even if a wider dietary niche increases the chance of adaptation to altered environments (Murgatroyd et al. 2016), food availability remains an important issue for species conservation. Many disturbances to freshwater environments result in a decline of abundance and richness in aquatic invertebrate communities (Paul and Meyer 2001) and thus have detrimental consequences for Pyrenean desmans. Other threats affecting its nesting (on river banks) and foraging (in river beds) habitats as well as population viability, such as predation and mortality induced by human activities, should be limited as much as possible to protect Pyrenean desmans. Further studies are needed to 1) investigate the extent to which the diet and spatial distribution of Pyrenean desmans are influenced by prey availability and other biotic interactions and 2) get a thorough knowledge of its foraging areas within streams to determine how habitat heterogeneity affects diet.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank all the partners for their help in conducting the extensive fieldwork at the scale of the French Pyrenees: Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Environnement (EcoLab – CNRS/UPS/INPT), Fédération Aude Claire, Fédération des Réserves Naturelles Catalanes, Office National des Forêts, Groupe de Recherche et d'Etudes pour la Gestion de l'Environnement, Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, Parc National des Pyrénées, Conservatoire d'Espaces Naturels Ariège, Conservatoire d'Espaces Naturels Aquitaine, Conservatoire d'Espaces Naturels Midi-Pyrénées (CEN MP). We are also grateful to G. Grenouillet for statistical support and to F. D'Amico. This study was funded by ANRT (Cifre n° 2011/1018 et n° 2011/1571), the European Union (FEDER and LIFE+ Nature), EDF (Electricité de France), Agence de l'eau Adour-Garonne, DREAL (Direction Régionale pour l'Environnement, l'Aménagement et le Logement) Aquitaine, Midi-Pyrénées, and Languedoc-Roussillon, Conseil Régional Aquitaine, Midi-Pyrénées and Languedoc-Roussillon, Conseil Départemental Pyrénées-Atlantiques, Aude, and Pyrénées-Orientales, SHEM (Société Hydroélectrique du Midi), and Patagonia. It is part of the French Conservation Action Plan for the Pyrenean desman (2010–2015) supervised by DREAL de Midi-Pyrenees and coordinated by the CEN MP.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data are available at *Journal of Mammalogy* online.

Supplementary Data SD1.— Complete list of taxa identified as prey of Pyrenean desmans (*Galemys pyrenaicus*) by molecular analysis of 383 feces collected in the French Pyrenees. Frequencies of occurrence of each prey (FO: % of feces with taxa) are displayed. *Misidentified taxa whose distribution areas exclude the Pyrenees and France. Habitat type of taxa is given (aq: exclusively aquatic; aq/te: with aquatic and terrestrial stages; te: exclusively terrestrial).

LITERATURE CITED

- ANDERSON, M. J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26:32–46.
- ANDERSON, M. J., K. E. ELLINGSEN, AND B. H. MCARDLE. 2006. Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecology Letters* 9:683–693.
- ARAÚJO, M. B., AND M. LUOTO. 2007. The importance of biotic interactions for modelling species distributions under climate change. *Global Ecology and Biogeography* 16:743–753.
- AYMERICH, P., AND J. GOSÁLBEZ. 2002. Factors de distribució de *Galemys pyrenaicus* (Insectivora, Talpidae) a Catalunya. *Orsis* 17:21–35.
- BELMAKER, J., ET AL. 2015. Empirical evidence for the scale dependence of biotic interactions. *Global Ecology and Biogeography* 24:750–761.
- BERTRAND, A. 1994. Répartition géographique et écologie alimentaire du desman des Pyrénées, *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy. 1811) dans les Pyrénées françaises. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, Toulouse, France.
- BIFFI, M., A. CHARBONNEL, L. BUISSON, F. BLANC, M. NÉMOZ, AND P. LAFFAILLE. 2016. Spatial differences across the French Pyrenees in the use of local habitat by the endangered semi-aquatic Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 26:761–774.
- BORCARD, D., F. GILLET, AND P. LEGENDRE. 2011. *Numerical ecology* with R. Springer, New York.
- BOULANGEAT I., D. GRAVEL, AND W. THUILLER. 2012. Accounting for dispersal and biotic interactions to disentangle the drivers of species distributions and their abundances. *Ecology Letters* 15:584–593.
- BROWN, L. E., A. M. MILNER, AND D. M. HANNAH. 2006. Stability and persistence of alpine stream macroinvertebrate communities and the role of physicochemical environmental variables. *Hydrobiologia* 560:159–173.
- CÁCERES, M. D., AND P. LEGENDRE. 2009. Associations between species and groups of sites: indices and statistical inference. *Ecology* 90:3566–3574.
- CASTIÉN, E., AND J. GOSÁLBEZ. 1992. Distribucion geográfica y habitats ocupados por *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy. 1811) (Insectivora: Talpidae) en los Pireneos occidentales. *Doñana Acta Vertebrata* 19:37–44.
- CASTIÉN, E., AND J. GOSÁLBEZ. 1995. Diet of *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy. 1811) in the North of the Iberian Peninsula. *Netherlands Journal of Zoology* 45:422–430.
- CASTIÉN, E., AND J. GOSÁLBEZ. 1999. Habitat and food preferences in a guild of insectivorous mammals in the Western Pyrenees. *Acta Theriologica* 44:1–13.
- CHARBONNEL, A., ET AL. 2014. Spatial replicates as an alternative to temporal replicates for occupancy modelling when surveys are based on linear features of the landscape. *Journal of Applied Ecology* 51:1425–1433.
- CHARBONNEL, A., ET AL. 2015. Integrating hydrological features and genetically validated occurrence data in occupancy modelling of an endemic and endangered semi-aquatic mammal, *Galemys pyrenaicus*, in a Pyrenean catchment. *Biological Conservation* 184:182–192.
- CHARBONNEL, A., ET AL. 2016. Can recent global changes explain the dramatic range contraction of an endangered semi-aquatic mammal species in the French Pyrenees? *PLoS ONE* 11:e0159941.
- CHURCHFIELD, S., AND L. RYCHLIK. 2006. Diets and coexistence in *Neomys* and *Sorex* shrews in Białowieża forest, eastern Poland. *Journal of Zoology* 269:381–390.
- CLAVERO, M., J. PRENDA, AND M. DELIBES. 2003. Trophic diversity of the otter (*Lutra lutra* L.) in temperate and Mediterranean freshwater habitats. *Journal of Biogeography* 30:761–769.
- DEAGLE, B. E., S. N. JARMAN, E. COISSAC, F. POMPANON, AND P. TABERLET. 2014. DNA metabarcoding and the cytochrome c oxidase subunit I marker: not a perfect match. *Biology Letters* 10:20140562.
- DUFRÈNE, M., AND P. LEGENDRE. 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological Monographs* 67:345–366.
- EVANGELISTA, C., A. BOICHE, A. LECERF, AND J. CUCHEROUSET. 2014. Ecological opportunities and intraspecific competition alter trophic niche specialization in an opportunistic stream predator. *The Journal of Animal Ecology* 83:1025–1034.
- FERNANDES, M., J. HERRERO, S. AULAGNIER, AND G. AMORI. 2008. *Galemys pyrenaicus*. IUCN 2014: the IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. www.iucnredlist.org. Accessed 8 November 2014.
- FINN, D. S., K. KHAMIS, AND A. M. MILNER. 2013. Loss of small glaciers will diminish beta diversity in Pyrenean streams at two levels of biological organization. *Global Ecology and Biogeography* 22:40–51.
- FOLMER, O., M. BLACK, W. HOEH, R. LUTZ, AND R. VRIJENHOEK. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3:294–299.
- FÜREDER, L., M. WALLINGER, AND R. BURGER. 2004. Longitudinal and seasonal pattern of insect emergence in alpine streams. *Aquatic Ecology* 39:67–78.
- GALAN, M., M. PAGÈS, AND J. F. COSSON. 2012. Next-generation sequencing for rodent barcoding: species identification from fresh, degraded and environmental samples. *PLoS ONE* 7:e48374.
- GILLET, F. 2015. Génétique et biologie de la conservation du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) en France. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, Toulouse, France and Université de Liège, Liège, Belgique.
- GILLET, F., ET AL. 2015. A new method to identify the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) and to study its diet, using next generation sequencing from faeces. *Mammalian Biology* 80:505–509.
- GILLET, F., ET AL. 2016. Genetic monitoring of the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) in the Aude River, France. *Belgian Journal of Zoology* 146:44–52.
- GISBERT, J., AND R. GARCÍA-PEREA. 2014. Historia de la regresión del desmán ibérico *Galemys pyrenaicus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire. 1811) en el Sistema Central (Península Ibérica). Conservation and management of semi-aquatic mammals of southwestern Europe. *Munibe Monographs: Nature Series* 3:19–35.
- HAJIBABAEI, M., S. SHOKRALLA, X. ZHOU, G. A. SINGER, AND D. J. BAIRD. 2011. Environmental barcoding: a next-generation sequencing

- approach for biomonitoring applications using river benthos. *PLoS ONE* 6:e17497.
- HEBERT, P. D. N., E. H. PENTON, J. M. BURNS, D. H. JANZEN, AND W. HALLWACHS. 2004. Ten species in one : DNA barcoding reveals cryptic species in the Neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *PNAS* 101:14812–14817.
- JOHNSON, R. C., H.-S. JIN, M. M. CARREIRO, AND J. D. JACK. 2013. Macroinvertebrate community structure, secondary production and trophic-level dynamics in urban streams affected by non-point-source pollution. *Freshwater Biology* 58:843–857.
- KISSLING, W. D., ET AL. 2012. Towards novel approaches to modelling biotic interactions in multispecies assemblages at large spatial extents. *Journal of Biogeography* 39:2163–2178.
- KRAUS, J. M., J. F. POMERANZ, A. S. TODD, D. M. WALTERS, T. S. SCHMIDT, AND R. B. WANTY. 2016. Aquatic pollution increases use of terrestrial prey subsidies by stream fish. *Journal of Applied Ecology* 53:44–53.
- LINDAHL, T. 1993. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362:709–715.
- MCINNES, J. C., R. ALDERMAN, B. E. DEAGLE, M.-A. LEA, B. RAYMOND, AND S. N. JARMAN. 2017. Optimised scat collection protocols for dietary DNA metabarcoding in vertebrates. *Methods in Ecology and Evolution* 8:192–202.
- MELERO, Y., P. AYMERICH, J. J. LUQUE-LARENA, AND J. GOSÁLBEZ. 2012. New insights into social and space use behaviour of the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*). *European Journal of Wildlife Research* 58:185–193.
- MELERO, Y., P. AYMERICH, G. SANTULLI, AND J. GOSÁLBEZ. 2014. Activity and space patterns of Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) suggest non-aggressive and non-territorial behaviour. *European Journal of Wildlife Research* 60:707–715.
- MILARDI, M., S. M. THOMAS, AND K. K. KAHILAINEN. 2016. Reliance of brown trout on terrestrial prey varies with season but not fish density. *Freshwater Biology* 61:1143–1156.
- MURGATROYD, M., G. AVERY, L. G. UNDERHILL, AND A. AMAR. 2016. Adaptability of a specialist predator: the effects of land use on diet diversification and breeding performance of Verreaux's eagles. *Journal of Avian Biology* 47:834–845.
- MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE. 2003–2017. Inventaire National du Patrimoine Naturel. <https://inpn.mnhn.fr>. Accessed 15 May 2016.
- NÉMOZ, M., A. BERTRAND, M. SOURIE, AND P. ARLLOT. 2011. A French conservation action plan for the Pyrenean desman *Galemys pyrenaicus*. *Galemys* 23:47–50.
- OPIE-BENTHOS. 2017. Office Pour les Insectes et leur Environnement. <http://www.opie-benthos.fr/opie/insecte.php>. Accessed 15 May 2016.
- PALLOTTINI, M., ET AL. 2017. Macroinvertebrate functional trait responses to chemical pollution in agricultural–industrial landscapes. *River Research and Applications* 33:505–513.
- PAUL, M. J., AND J. L. MEYER. 2001. Streams in the urban landscape. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32:333–365.
- PEARSON, R. G., AND T. P. DAWSON. 2003. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful? *Global Ecology and Biogeography* 12:361–371.
- PIÑOL, J., V. SAN ANDRÉS, E. L. CLARE, G. MIR, AND W. O. C. SYMONDSON. 2014. A pragmatic approach to the analysis of diets of generalist predators: the use of next-generation sequencing with no blocking probes. *Molecular Ecology Resources* 14:18–26.
- PIRY, S., E. GUIVIER, A. REALINI, AND J. F. MARTIN. 2012. |SE|S|AM|E| barcode: NGS-oriented software for amplicon characterization–application to species and environmental barcoding. *Molecular Ecology Resources* 12:1151–1157.
- POMPANON, F., B. E. DEAGLE, W. O. SYMONDSON, D. S. BROWN, S. N. JARMAN, AND P. TABERLET. 2012. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Molecular Ecology* 21:1931–1950.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2014. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. www.R-project.org/. Accessed 10 May 2016.
- RATNASINGHAM, S., AND P. D. HEBERT. 2007. Bold: the barcode of life data system (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes* 7:355–364.
- REAL, R., ET AL. 2009. Conservation biogeography of ecologically interacting species: the case of the Iberian lynx and the European rabbit. *Diversity and Distributions* 15:390–400.
- REID, H. E., G. J. BRIERLEY, AND I. K. G. BOOTHROYD. 2010. Influence of bed heterogeneity and habitat type on macroinvertebrate uptake in peri-urban streams. *International Journal of Sediment Research* 25:203–220.
- RODRIGUES, A. S., J. D. PILGRIM, J. F. LAMOREUX, M. HOFFMANN, AND T. M. BROOKS. 2006. The value of the IUCN red list for conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 21:71–76.
- RUÍZ-OLMO, J., J. M. LÓPEZ-MARTÍN, AND S. PALAZÓN. 2001. The influence of fish abundance on the otter (*Lutra lutra*) populations in Iberian Mediterranean habitats. *Journal of Zoology* 254:325–336.
- SANTAMARINA, J. 1993. Feeding ecology of a vertebrate assemblage inhabiting a stream of NW Spain (Riobo; Ulla Basin). *Hydrobiologia* 252:175–191.
- SANTAMARINA, J., AND J. GUITIÁN. 1988. Quelques données sur le régime alimentaire du desman (*Galemys pyrenaicus*) dans le nord-ouest de l'Espagne. *Mammalia* 52:302–307.
- SHEPPARD, S. K., J. BELL, K. D. SUNDERLAND, J. FENLON, D. SKERVIN, AND W. O. SYMONDSON. 2005. Detection of secondary predation by PCR analyses of the gut contents of invertebrate generalist predators. *Molecular Ecology* 14:4461–4468.
- SOBERÓN, J., AND A. T. PETERSON. 2005. Interpretation of models of fundamental ecological niches and species' distributional areas. *Biodiversity Informatics* 2:1–10.
- TACHET, H., P. RICHOUX, M. BOURNAUD, AND P. USSEGLIO-POLATERA. 2000. Invertébrés d'eau douce. Systématique, Biologie, Ecologie. CNRS Editions, Paris, France.
- USSEGLIO-POLATERA, P., M. BOURNAUD, P. RICHOUX, AND H. TACHET. 2000. Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates: relationships and definition of groups with similar traits. *Freshwater Biology* 43:175–205.
- WISZ, M. S., ET AL. 2013. The role of biotic interactions in shaping distributions and realised assemblages of species: implications for species distribution modelling. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 88:15–30.

Submitted 6 February 2017. Accepted 15 May 2017.

Associate Editor was Tereza Jezkova.

Supplementary Data SD1.— Complete list of taxa identified as Pyrenean desman prey by molecular analysis of 383 faeces collected in the French Pyrenees. Frequencies of occurrence of each prey (FO: % of faeces with taxa) are displayed. * indicates misidentified taxa whose distribution areas exclude the Pyrenees and France. Habitat type of taxa is given (aq: exclusively aquatic ; aq/te: with aquatic and terrestrial stages ; te: exclusively terrestrial).

Class	FO (%)	Order	FO (%)	Family	FO (%)	Genus	Habitat	FO (%)
Insecta	99.7	Ephemeroptera	86.7	Heptageniidae	59.0	<i>Rhithrogena</i>	aq/te	36.6
						<i>Ecdyonurus</i>	aq/te	35.3
						<i>Epeorus</i>	aq/te	9.1
						<i>Electrogena</i>	aq/te	0.5
				Baetidae	56.7	<i>Baetis</i>	aq/te	56.4
						<i>Acentrella</i>	aq/te	0.3
				Ephemerellidae	37.1	<i>Ephemerella</i>	aq/te	37.1
				Leptophlebiidae	4.7	<i>Thraulodes</i> *	aq/te	3.9
						<i>Habroleptoides</i>	aq/te	0.5
						<i>Habrophlebia</i>	aq/te	0.3
		Plecoptera	84.9	Nemouridae	49.4	<i>Protonemura</i>	aq/te	47.3
						<i>Nemoura</i>	aq/te	1.8
						<i>Paranemoura</i> *	aq/te	1.3
						<i>Amphinemura</i>	aq/te	0.3
						<i>Zapada</i> *	aq/te	0.3
				Perlodidae	32.6	<i>Perlodes</i>	aq/te	30.6
						<i>Isoperla</i>	aq/te	3.1
						<i>Arcynopteryx</i>	aq/te	0.5
						<i>Kogotus</i> *	aq/te	0.5
				Leuctridae	29.8	<i>Leuctra</i>	aq/te	29.5
						<i>Perlomyia</i> *	aq/te	0.3
				Perlidae	25.9	<i>Perla</i>	aq/te	15.7
						<i>Dinocras</i>	aq/te	15.1
				Notonemouridae	5.5	<i>Halticoperla</i> *	aq/te	5.2
						<i>Spaniocerca</i> *	aq/te	0.3
				Pteronarcyidae	5.2	<i>Pteronarcys</i> *	aq/te	5.2
				Taeniopterygidae	2.6	<i>Brachyptera</i>	aq/te	2.1
						<i>Taeniopteryx</i>	aq/te	0.5
		Trichoptera	64.0	Hydropsychidae	46.7	<i>Hydropsyche</i>	aq/te	46.2
						<i>Diplectrona</i>	aq/te	1.3

Class	FO (%)	Order	FO (%)	Family	FO (%)	Genus	Habitat	FO (%)
Insecta	99.7	Trichoptera	64.0	Limnephilidae	19.1	<i>Potamophylax</i>	aq/te	8.1
						<i>Chaetopteryx</i>	aq/te	3.4
						<i>Allogamus</i>	aq/te	2.6
						<i>Halesus</i>	aq/te	2.4
						<i>Annitella</i>	aq/te	2.1
						<i>Drusus</i>	aq/te	1.8
				Rhyacophilidae	6.5	<i>Rhyacophila</i>	aq/te	6.5
				Odontoceridae	3.4	<i>Odontocerum</i>	aq/te	3.4
				Sericostomatidae	2.1	<i>Sericostoma</i>	aq/te	2.1
				Philopotamidae	1.3	<i>Philopotamus</i>	aq/te	1.0
						<i>Wormaldia</i>	aq/te	0.3
				Goeridae	0.3	<i>Goeracea*</i>	aq/te	0.3
				Uenoidae	0.3	<i>Thremma</i>	aq/te	0.3
		Diptera	45.7	Simuliidae	15.4	<i>Simulium</i>	aq/te	14.9
						<i>Stegopterna*</i>	aq/te	0.5
				Chironomidae	14.6	<i>Limnophyes</i>	aq/te	2.4
						<i>Orthocladius</i>	aq/te	2.4
						<i>Synorthocladius</i>	aq/te	1.6
						<i>Cricotopus</i>	aq/te	1.0
						<i>Tvetenia</i>	aq/te	1.0
						<i>Brillia</i>	aq/te	0.8
						<i>Corynoneura</i>	aq/te	0.8
						<i>Polypedilum</i>	aq/te	0.8
						<i>Thienemannia</i>	aq/te	0.8
						<i>Diamesa</i>	aq/te	0.5
						<i>Dicrotendipes</i>	aq/te	0.5
						<i>Microspectra</i>	aq/te	0.5
						<i>Smittia</i>	aq/te	0.5
						<i>Cardiocladius</i>	aq/te	0.3
						<i>Conchapelopia</i>	aq/te	0.3
						<i>Macropelopia</i>	aq/te	0.3
						<i>Microtendipes</i>	aq/te	0.3
						<i>Parametriocnemus</i>	aq/te	0.3
						<i>Paratanytarsus</i>	aq/te	0.3
						<i>Paratrichocladius</i>	aq/te	0.3
						<i>Pseudodiamesa</i>	aq/te	0.3
						<i>Rheotanytarsus</i>	aq/te	0.3
						<i>Zavrelimyia</i>	aq/te	0.3
				Stratiomyidae	10.7	<i>Sargus</i>	te	10.7
				Tipulidae	4.7	<i>Tipula</i>	aq/te	4.7
				Ephydriidae	3.7	<i>Allotrichoma</i>	aq/te	2.6
						<i>Ephydra</i>	aq/te	0.8
						<i>Scatophila</i>	aq/te	0.3

Class	FO (%)	Order	FO (%)	Family	FO (%)	Genus	Habitat	FO (%)
Insecta	99.7	Diptera	45.7	Anthomyiidae	2.6	<i>Lasiomma</i>	te	1.3
						<i>Zaphne</i>	te	1.3
				Psychodidae	2.6	<i>Psychoda</i>	aq/te	2.6
				Pediciidae	1.8	<i>Dicranota</i>	aq/te	1.6
						<i>Pedicia</i>	aq/te	0.3
				Agromyzidae	1.3	<i>Phytomyza</i>	te	1.3
				Limoniidae	1.3	<i>Eloeophila</i>	aq/te	1.0
						<i>Limonia</i>	te	0.3
				Calliphoridae	0.8	<i>Lucilia</i>	te	0.8
				Muscidae	0.8	<i>Helina</i>	te	0.5
						<i>Thricops</i>	te	0.3
				Platystomatidae	0.8	<i>Plagiostenopterina*</i>	te	0.8
				Sciomyzidae	0.8	<i>Pteromicra</i>	aq/te	0.8
				Syrphidae	0.9	<i>Blera</i>	te	0.3
						<i>Episyrphus</i>	te	0.3
						<i>Spilomyia</i>	te	0.3
				Tachinidae	0.8	<i>Euthera*</i>	te	0.3
						<i>Siphona</i>	te	0.3
						<i>Tachinid*</i>	te	0.3
				Tephritidae	0.8	<i>Anastrepha*</i>	te	0.5
						<i>Ceratitis</i>	te	0.3
				Blephariceridae	0.5	<i>Liponeura</i>	aq/te	0.5
				Drosophilidae	0.5	<i>Scaptomyza</i>	te	0.5
				Anisopodidae	0.3	<i>Sylvicola</i>	te	0.3
				Athericidae	0.3	<i>Atherix</i>	aq/te	0.3
				Chloropidae	0.3	<i>Epichlorops</i>	te	0.3
				Culicidae	0.3	<i>Anopheles</i>	aq/te	0.3
				Hybotidae	0.3	<i>Platypalpus</i>	te	0.3
				Pipunculidae	0.3	<i>Tomosvaryella</i>	te	0.3
				Sarcophagidae	0.3	<i>Sarcophaga</i>	te	0.3
				Tabanidae	0.3	<i>Haematopota</i>	te	0.3
		Plecoptera_Ephemeroptera	30.8	Perlodidae_Heptageniidae	30.8	<i>Perlodes_Epeorus*</i>	aq/te	30.8
		Coleoptera	14.1	Carabidae	7.1	<i>Bembidion</i>	te	6.5
						<i>Abax</i>	te	0.3
						<i>Paranchus</i>	te	0.3
				Scirtidae	6.3	<i>Elodes</i>	aq/te	6.3
				Cerambycidae	0.5	<i>Eburia*</i>	te	0.5
				Dryopidae	0.3	<i>Dryops</i>	aq/te	0.3
				Dytiscidae	0.3	<i>Laccophilus</i>	aq	0.3
				Staphylinidae	0.3	<i>Lesteva</i>	te	0.3
		Orthoptera	6.5	Anostostomatidae	6.5	<i>Hemiandrus*</i>	te	6.5
		Neuroptera	1.8	Chrysopidae	1.8	<i>Chrysopidgc*</i>	te	1.8

Class	FO (%)	Order	FO (%)	Family	FO (%)	Genus	Habitat	FO (%)
Insecta	99.7	Hemiptera	1.3	Aphididae	0.5	<i>Rhopalosiphum</i>	te	0.5
				Pentatomidae	0.5	<i>Pentatoma</i>	te	0.5
				Cercopidae	0.3	<i>Philaenus</i>	te	0.3
		Lepidoptera	1.0	Geometridae	0.3	<i>Lycia</i>	te	0.3
				Noctuidae	0.8	<i>Abragrotis</i> *	te	0.3
						<i>Lacinipolia</i> *	te	0.3
						<i>Orthodes</i> *	te	0.3
		Odonata	0.5	Calopterygidae	0.3	<i>Calopteryx</i>	aq/te	0.3
				Gomphidae	0.3	<i>Ophiogomphus</i>	aq/te	0.3
Malacostraca	18.0	Amphipoda	16.7	Gammaridae	16.5	<i>Gammarus</i>	aq	14.6
						<i>Dikerogammarus</i>	aq	2.6
				Oedicerotidae	0.5	<i>Arrhis</i> *	aq	0.5
				Talitridae	0.3	<i>Platorchestia</i> *	aq	0.3
		Isopoda	1.6	Philosciidae	0.5	<i>Philoscia</i>	te	0.5
				Armadillidiidae	0.3	<i>Armadillidium</i>	te	0.3
				Oniscidae	0.3	<i>Oniscus</i>	te	0.3
				Porcellionidae	0.3	<i>Porcellio</i>	te	0.3
				Scyphacidae	0.3	<i>Haloniscus</i> *	aq	0.3
		Decapoda	0.3	Penaeidae	0.3	<i>Holthuispenaeopsis</i> *	aq	0.3
Diplopoda	3.7	Glomerida	2.4	Glomeridae	2.1	<i>Glomeris</i>	te	2.1
				Glomeridellidae	0.3	<i>Glomeridella</i>	te	0.3
		Polydesmida	0.8	Polydesmidae	0.8	<i>Polydesmus</i>	te	0.8
		Julida	0.5	Julidae	0.5	<i>Allajulus</i>	te	0.3
						<i>Pteridoiulus</i> *	te	0.3
		Chordeumatida	0.3	Craspedosomatidae	0.3	<i>Ochogona</i>	te	0.3
Lissamphibia	2.9	Urodeles	2.9	Salamandridae	2.9	<i>Calotriton</i>	aq/te	1.8
						<i>Salamandra</i>	aq/te	1.0
Arachnida	2.4	Araneae	0.8	Philodromidae	0.5	<i>Philodromus</i>	te	0.5
				Tetragnathidae	0.3	<i>Metellina</i>	te	0.3
		Opiliones	0.5	Phalangiidae	0.5	<i>Opilio</i>	te	0.5
		Sarcoptiformes	0.5	Ceratozetidae	0.3	<i>Fuscozetes</i>	te	0.3
				Oribatulidae	0.3	<i>Zygoribatula</i>	te	0.3
		Trombidiformes	0.5	Torrenticolidae	0.5	<i>Torrenticola</i>	aq	0.5
Clitellata	0.5	Haplotaxida	0.5	Lumbricidae	0.3	<i>Aporrectodea</i>	te	0.3
				Megascolecidae	0.3	<i>Metaphire</i>	te	0.3
Collembola	0.3	Entomobryomorpha	0.3	Tomoceridae	0.3	<i>Tomocerus</i>	te	0.3
Eurotatoria	0.3	Bdelloida	0.3	Habrotrichidae	0.3	<i>Habrotricha</i>	aq	0.3
Eutardigrada	0.3	Parachela	0.3	Isohypsibiidae	0.3	<i>Thulinus</i> *	aq	0.3
Gastropoda	0.3	Littorinimorpha	0.3	Tateidae	0.3	<i>Potamopyrgus</i>	aq	0.3
Unidentified fish							aq	0.5

CHAPITRE 5.

Recouvrement trophique entre le desman des Pyrénées et la crossope aquatique : comparaison des régimes alimentaires et de la sélectivité en proies

5.1. RESUME DU CHAPITRE

Dans le chapitre précédent, l'utilisation d'outils récents de génétique moléculaire a permis de mettre en évidence que le desman des Pyrénées possède un régime alimentaire diversifié incluant une majorité d'invertébrés aquatiques mais également une consommation non négligeable de proies terrestres. Son régime alimentaire semble également flexible en fonction des conditions locales de l'habitat (e.g. pente du cours d'eau, impacts anthropiques, hétérogénéité du lit mineur) qui pourraient influencer la disponibilité en proies et la diversité des habitats de chasse accessibles. Pour confirmer cette hypothèse de flexibilité, il est donc nécessaire de s'intéresser maintenant à la sélectivité du régime alimentaire du desman des Pyrénées vis-à-vis des proies potentiellement disponibles dans le milieu. Cette hypothèse serait confirmée si la communauté de proies consommées par le desman des Pyrénées est similaire à la communauté de proies présentes dans le milieu, tant en termes de composition que de fréquences relatives.

En parallèle, le chapitre 3 a mis en évidence une influence négative de la présence de la crossope aquatique sur le desman des Pyrénées puisque le nombre de fèces détectées de ce dernier était plus faible en présence de cette espèce de musaraigne. Or, la coexistence entre deux espèces sympatriques est supposée facilitée par une différenciation de la niche écologique ou trophique (Pianka, 1974). Dans des conditions environnementales limitantes (e.g. peu d'habitats favorables disponibles, proies peu abondantes), un recouvrement important de la niche écologique de deux espèces pourrait mener à de fortes interactions de compétition entre elles, avec des conséquences potentielles sur leur distribution locale et régionale (Wiszniewski *et al.*, 2013). Jusqu'à présent, le recouvrement entre la niche trophique du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique n'a fait l'objet que de quelques études (Santamarina, 1993 ; Castién & Gosálbez, 1999). Ces dernières reposaient généralement sur un nombre réduit d'échantillons analysés (e.g. six échantillons de desman des Pyrénées pour Santamarina, 1993) et sur les techniques traditionnelles d'identification morphologique des restes de proies dont les inconvénients ont été listés dans le chapitre précédent.

L'objectif de ce chapitre est donc d'analyser le régime alimentaire du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique, grâce aux techniques récentes de génétique moléculaire, et dans une zone géographique où elles sont présentes conjointement. Cette étude est ainsi la première à appliquer les nouveaux outils génétiques à l'analyse du régime alimentaire de la crossope aquatique. La sélectivité en proies des deux mammifères et un recouvrement trophique potentiel entre ces deux espèces ont été étudiés grâce à l'échantillonnage des invertébrés aquatiques benthiques présents dans les rivières (i.e. proies aquatiques potentiellement disponibles).

Le régime alimentaire des deux espèces de mammifères a été décrit dans 65 sites du département de l'Ariège à partir de fèces collectées entre juin et septembre 2015. Au total, 30 et 33 ordres, 111 et 117 familles, et 194 et 205 genres ont été consommés respectivement par le desman des Pyrénées et la crossope aquatique. Ces résultats sont en accord avec ceux du chapitre 4 pour le desman des Pyrénées qui ont mis en évidence une très grande diversité de proies à l'échelle de son aire de répartition française. De plus, seulement 31 % des proies du desman des Pyrénées identifiées dans ce chapitre étaient communes à celles identifiées dans le chapitre 4 confirmant ainsi un régime alimentaire encore plus diversifié. Les proies les plus fréquemment consommées sont des invertébrés appartenant aux classes des Insecta, Malacostraca et Diplopoda pour le desman des Pyrénées, et aux classes des Insecta, Diplopoda, Arachnida, Gastropoda et Malacostraca pour la crossope aquatique (Figure 5-1).

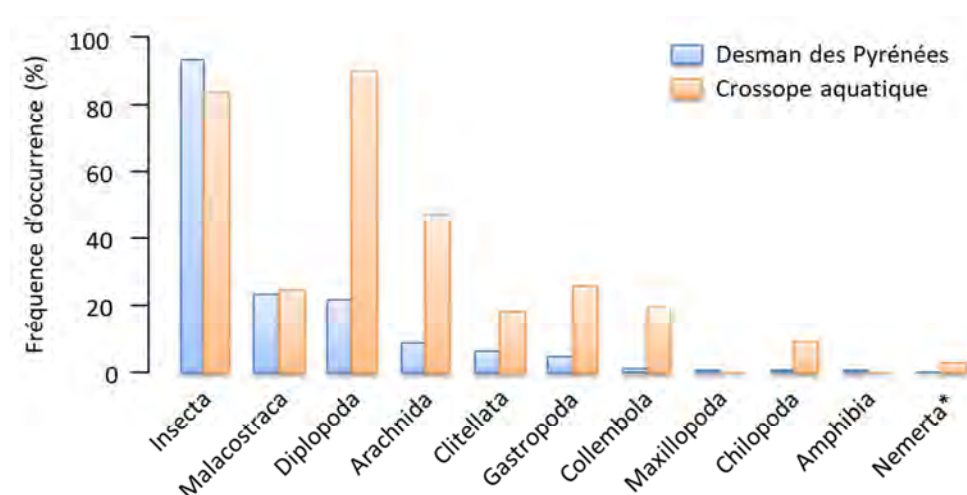


Figure 5-1: Fréquence d'occurrence des proies (i.e. % de fèces contenant le taxon par rapport au nombre de fèces collectées) dans les fèces du desman des Pyrénées (en bleu) et de la crossope aquatique (en orange) au niveau taxonomique des classes (* à l'échelle de l'embranchement pour les Némertes).

Les différences entre les deux espèces reposent principalement sur une consommation plus fréquente de taxons appartenant aux ordres des Ephemeroptera, Plecoptera et Trichoptera pour le desman des Pyrénées alors que la crossope aquatique consomme plus fréquemment des invertébrés exclusivement terrestres tels que les Glomerida, les Polydesmida ou les Julida (Figure 5-2).

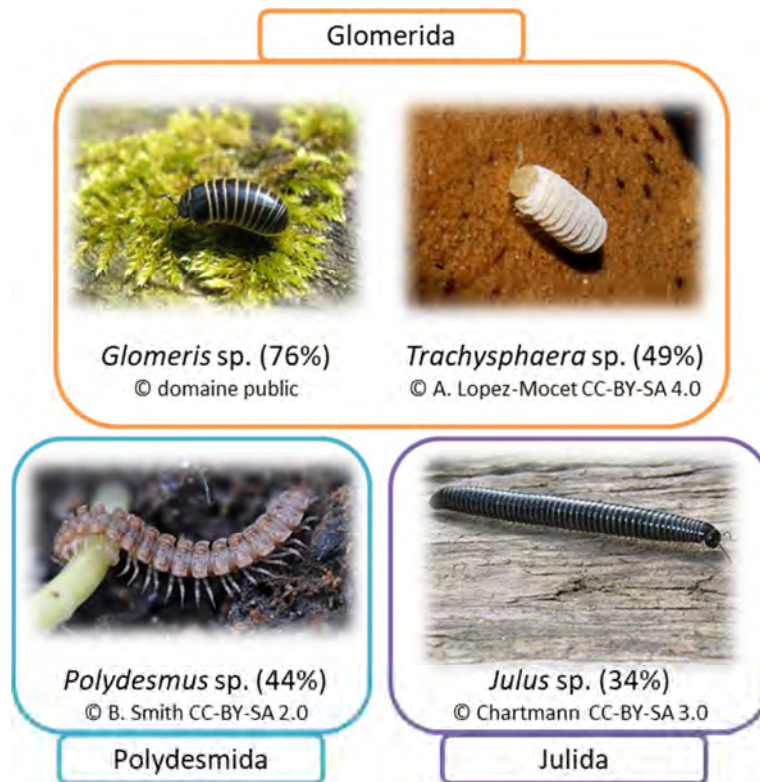


Figure 5-2 : Genres d'invertébrés les plus consommés par la crossope aquatique (i.e. présents dans plus de 25 % de ses fèces). Les pourcentages représentent la proportion de fèces contenant le taxon par rapport au total de fèces de crossope aquatique collectées.

Les prélèvements des proies aquatiques potentiellement disponibles dans les cours d'eau ont été réalisés sur 27 des 65 sites échantillonnés. Ils ont permis d'identifier 51 familles d'invertébrés aquatiques. Ce nombre de familles est bien plus restreint que celui obtenu par l'analyse des fèces car il est issu d'un nombre plus faible de sites échantillonnés et les échantillons ont uniquement été prélevés dans le milieu aquatique (i.e. habitats de rivière dominants), excluant ainsi les taxons strictement terrestres ou les stades terrestres des taxons utilisant les milieux aquatiques et terrestres au cours de leur développement. Ces familles d'invertébrés présentes dans les rivières ont été comparées à celles consommées par les deux mammifères en utilisant l'indice d'électivité d'Ivlev (Ivlev, 1961). Il a ainsi été montré que le desman des Pyrénées et la crossope aquatique ont des stratégies alimentaires plutôt non-sélectives et de type généralistes. En effet, les proies les plus fréquemment consommées par le desman des Pyrénées correspondent globalement aux invertébrés les plus fréquents et les plus abondants dans les rivières ariégeoises, malgré la présence d'un grand nombre de taxons consommés dans des fréquences plus faibles (i.e. évitement) ou plus importantes (i.e. préférence) que celles disponibles dans les cours d'eau. Ce constat semble un peu plus contrasté pour la crossope aquatique, qui évite un peu plus et sélectionne un peu moins les proies du milieu aquatique. Cette différence de sélectivité de proies entre les deux mammifères pourrait être due aux

adaptations morphologiques à la vie en milieu aquatique, plus poussées chez le desman des Pyrénées, qui lui assureraient une meilleure efficacité pour se nourrir au sein des cours d'eau que la crossope aquatique.

Le recouvrement trophique entre le desman des Pyrénées et la crossope aquatique a été identifié comme plutôt faible mais non négligeable par l'indice de recouvrement de niche de Pianka (1973). Par ailleurs, aucune modification de la composition du régime alimentaire du desman des Pyrénées n'a été notée en présence de la crossope aquatique. Le très faible nombre de tronçons de cours d'eau où la crossope aquatique était présente sans le desman des Pyrénées n'a pas permis de tester la relation inverse. A ce stade, il n'est donc pas possible de conclure définitivement à une potentielle compétition trophique entre ces deux mammifères dans les rivières ariégeoises. Cependant, cette étude souligne que la présence de la crossope aquatique ne semble pas affecter le régime alimentaire du desman des Pyrénées ni le déplacer vers d'autres proies.

La présence conjointe du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique dans les cours d'eau de l'Ariège, visiblement sans interaction forte, pourrait être expliquée par l'abondance des ressources alimentaires qui ne seraient pas limitantes dans les milieux aquatiques et/ou terrestres, et par des mécanismes de partitionnement de niche dû vraisemblablement à un accès aux ressources différent entre les deux espèces. D'une part, du fait de leur différence de taille et de masse, le desman des Pyrénées et la crossope aquatique pourraient cibler des invertébrés de tailles différentes et à des stades de développement variés. Cette hypothèse ne peut toutefois pas être testée par les outils génétiques qui ne permettent pas d'accéder à des informations aussi précises. D'autre part, les micro-habitats de chasse au sein des cours d'eau et des zones ripariennes des deux mammifères pourraient également être différents, expliquant ainsi la sélectivité différente des proies moins fréquemment consommées. Ces deux mécanismes sont communément observés au sein des communautés de musaraignes (e.g. Castién & Gosálbez, 1999 ; Churchfield *et al.*, 1999 ; Churchfield & Rychlik, 2006).

L'ensemble des résultats de cette étude, notamment la mise en évidence d'un régime alimentaire plutôt généraliste pour les deux mammifères, suggère que l'identité des proies ne semble pas être le critère déterminant dans la sélection des proies par le desman des Pyrénées et la crossope aquatique. Ces deux mammifères pourraient donc être tolérants à une certaine variation dans la composition de la communauté d'invertébrés présents dans les cours d'eau dans la mesure où les ressources alimentaires resteraient suffisamment abondantes (Costa *et al.*, 2015).

Afin d'aller plus loin sur la mise en évidence d'une éventuelle compétition trophique entre le desman des Pyrénées et la crossope aquatique, il serait nécessaire de :

- Coupler les données de régime alimentaire issues des outils de génétique moléculaire (i.e. présence-absence et fréquence d'occurrence des proies) à une estimation quantitative de la consommation des proies (i.e. abondance/biomasse des proies dans le régime alimentaire) obtenue par des méthodes d'identification plus traditionnelles, afin de décrire plus précisément et de façon quantitative la nature de leurs interactions. Ces méthodes présenteraient également l'avantage de déterminer les stades de développement et les classes de taille des proies consommées ;
- Comparer le régime alimentaire de la crossope aquatique en présence et en absence de desman des Pyrénées pour évaluer l'effet potentiellement compétiteur de ce dernier sur la crossope aquatique ;
- Etudier ces interactions trophiques au cours d'une année puisqu'elles peuvent certainement varier selon les saisons du fait d'une disponibilité différente des ressources alimentaires et de l'évolution des besoins des deux mammifères en fonction de leur cycle de vie ;
- Identifier plus finement le micro-habitat de chasse du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique pour évaluer une potentielle ségrégation spatiale de leurs niches trophiques.

Les résultats de ce chapitre sont détaillés dans l'article scientifique «Comparison of diet and prey selectivity of the Pyrenean desman and the Eurasian water shrew using next-generation sequencing methods» publié dans la revue *Mammalian Biology*.

5.2. ARTICLE 3

Comparison of diet and prey selectivity of the Pyrenean desman and the Eurasian water shrew using next-generation sequencing methods

Marjorie BIFFI¹, Pascal LAFFAILLE¹, Jérémy JABIOL¹, Adrien ANDRE², François GILLET²,
Sylvain LAMOTHE¹, Johan R. MICHAUX^{2,3} & Laëtitia BUISSON¹

¹*EcoLab, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9, France.*

²*Laboratoire de Biologie Evolutive, Unité de Génétique de la Conservation, Université de Liège, Institut de Botanique B22, Quartier Vallée 1, Chemin de la Vallée 4, 4000 Liège, Belgium.*

³*CIRAD, Agirs Unit, TA C- 22/E- Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France.*

Publié dans *Mammalian Biology*.



Original investigation

Comparison of diet and prey selectivity of the Pyrenean desman and the Eurasian water shrew using next-generation sequencing methods



Marjorie Biffi^{a,*}, Pascal Laffaille^a, Jérémy Jabiol^a, Adrien André^b, François Gillet^b,
Sylvain Lamothe^a, Johan R. Michaux^{b,c}, Laëticia Buisson^a

^a EcoLab, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9, France

^b Laboratoire de Biologie Evolutive, Unité de Génétique de la Conservation, Université de Liège, Institut de Botanique B22, Quartier Vallée 1, Chemin de la Vallée 4, 4000 Liège, Belgium

^c CIRAD, Agirs Unit, TA C-22/E- Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 December 2016

Accepted 12 September 2017

Handled by Laura Iacolina

Available online 14 September 2017

Keywords:

COI

Dietary overlap

Foraging strategy

Scat analyses

Semi-aquatic mammal

ABSTRACT

In this study, the interactions between two semi-aquatic mammals, the endangered Pyrenean desman *Galemys pyrenaicus* and the Eurasian water shrew *Neomys fodiens*, were investigated through the analysis of their summer diet using next-generation sequencing methods, combined with analyses of prey selectivity and trophic overlap. The diet of these predators was highly diverse including 194 and 205 genera for *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* respectively. Overall, both species exhibited rather non-selective foraging strategies as the most frequently consumed invertebrates were also the most frequent and abundant in the streams. This supported a generalist foraging behaviour for *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* in the study area. The Pianka index (0.4) indicated a significant but moderate dietary overlap as *G. pyrenaicus* mostly relied on prey with aquatic stages whereas prey of *N. fodiens* were mainly terrestrial. Moreover, no difference in *G. pyrenaicus* prey consumption was found in presence or absence of *N. fodiens*. A differential use of trophic resources through mechanisms such as plastic feeding behaviour or differences in foraging micro-habitat are likely to facilitate the coexistence between these two mammal species.

© 2017 Deutsche Gesellschaft für Säugetierkunde. Published by Elsevier GmbH. All rights reserved.

Introduction

Biodiversity conservation requires a thorough knowledge of the complex nature of interactions between species and their environment. According to the ecological niche theory (Hutchinson, 1957), sympatric species are expected to exhibit some niche differentiation in prey or habitat use to coexist (Pianka, 1974). Under limiting conditions, strong niche overlap between species may lead to strong competitive interactions, and may ultimately result in the competitive exclusion of the weakest competitor implying consequences on its local and regional distribution (Wisz et al., 2013). The study of resource use and potential niche overlap with competitors seems thus crucial to assess the vulnerability of species with

conservation concern. This is particularly true when focusing on species living in ecosystems that are vulnerable to anthropogenic alterations, such as freshwater ecosystems (Dudgeon et al., 2006). Any quantitative or qualitative shift in the resource availability and/or diversity (e.g. prey community) following disturbance (e.g. aquatic pollution, alteration of river flow) may exacerbate the competitive interactions between consumers.

The Pyrenean desman, *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811, Talpidae) is a small semi-aquatic mammal, endemic to the Pyrenees Mountains and the Iberian Peninsula (northern and central Spain, northern Portugal). The species is listed as vulnerable by the IUCN (Fernandes et al., 2008) and is legally protected in all the countries encompassing its distribution area. The alarming decline of *G. pyrenaicus* populations over the recent decades across its whole range (Charbonnel et al., 2016; Gisbert and García-Perea, 2014) has encouraged local, national and European conservation initiatives (e.g., in France: Life+ Desman, 2013; Némot et al., 2011). Yet, in spite of an increasing number of studies focusing on this species (e.g., Aymerich and Gosálbez, 2015; Biffi et al., 2016; Charbonnel et al., 2016; Escoda et al., 2017), the respective influence of prey, competitors and predators on its survival and distribution still remains to be explored.

Abbreviations: FO_{diet}, frequency of occurrence of invertebrate taxa in the predator diet (number of faeces containing the taxon divided by the total number of predator faeces); FO_{stream}, frequency of occurrence of invertebrate taxa in the streams (number of Surber samples with the taxa divided by the total number of Surber samples collected in the study sites).

* Corresponding author.

E-mail address: m.biffi@live.fr (M. Biffi).

Modern advances in molecular genetics were recently applied to investigate the diet of *G. pyrenaicus* in the French Pyrenees (Gillet, 2015; Gillet et al., 2015). They stressed the wide diversity of prey (156 genera) with half of them being found in the diet of *G. pyrenaicus* for the first time. Besides, these first studies confirmed the dietary preferences of *G. pyrenaicus* towards Trichoptera, Ephemeroptera and Plecoptera (Insecta), as previously known from traditional methods based on gut content analysis or visual inspection of faeces remains (e.g., Bertrand 1994; Casti  n and Gosálbez 1995; Santamarina 1993; Santamarina and Guiti  n 1988). In addition, Gillet (2015) emphasized a substantial consumption of terrestrial prey.

Several aquatic or semi-aquatic animals are known to prey and use similar food and habitat resources as *G. pyrenaicus* and act as potential competitors for resource acquisition: the brown trout *Salmo trutta* and the dipper *Cinclus cinclus* (Bertrand, 1994; Santamarina, 1993; Santamarina and Guiti  n, 1988), the Eurasian water shrew *Neomys fodiens* (Casti  n and Gosálbez 1999; Morueta-Holme et al., 2010; Santamarina and Guiti  n 1988), the Mediterranean water shrew *Neomys anomalus* (Santamarina, 1993) and the Pyrenean brook newt *Calotriton asper* (Bertrand, 1994). Among these species *N. fodiens* exhibits similar habitat preferences as *G. pyrenaicus*, i.e. swiftly-flowing streams with numerous shelters (e.g. cavities) on the riverbeds (Greenwood et al., 2002; Keckel et al., 2014). *N. fodiens* is also known as an opportunistic feeder consuming both aquatic (e.g., crustaceans, insect larvae) and terrestrial (e.g. coleopterans, gastropods, spiders, earthworms) prey (Casti  n and Gosálbez, 1999; Churchfield, 1985; Churchfield and Rychlik, 2006; Haberl, 2002). Moreover, *N. fodiens* exhibits a similar polyphasic activity pattern as *G. pyrenaicus* (Melero et al., 2014), with activity phases varying across seasons (Churchfield, 1984; Greenwood et al., 2002; Keckel et al., 2014; Rychlik, 2000). Despite important similarities in their habitat, resource preferences and life style, few studies have focused on the trophic overlap between *N. fodiens* and *G. pyrenaicus* to date. These studies, limited to small samples sizes (e.g., only six *G. pyrenaicus* samples in Santamarina, 1993) and relying solely on the visual inspection of prey remains in faeces or gut content, concluded that coexistence and diet differentiation were likely the result of a different use of micro-habitats (Casti  n and Gosálbez, 1999).

During the past years, molecular genetic methods based on faeces analyses were increasingly used instead of 'traditional' methods based on gut content analysis or visual inspection of faeces remains (Pompanon et al., 2012). Their main advantages are that (i) they do not request animal sacrifice compared to gut content analysis, (ii) they identify prey with high taxonomic resolution (genus and species levels), (iii) including highly degraded or soft-bodied species (molluscs, earthworms) that cannot be identified morphologically, (iv) they are less time consuming, and (v) they do not require any taxonomical expertise of the range of potential prey as long as taxa are present in genetic databases (see Pompanon et al., 2012 for a review). To date, though the diet of *G. pyrenaicus* has been recently described using molecular methods (Gillet, 2015; Gillet et al., 2015; Biffi et al., 2017), such data about *N. fodiens* have never been gathered, making any comparison of the respective diets of these two species rather speculative.

In this study, we aimed at describing the summer diet of these two mammals, using recent molecular genetic methods, in a part of the French Pyrenees (i.e., the Ariège department) where they are known to co-occur. Moreover, we compared the prey of these predator species with stream benthic invertebrate communities, on which *G. pyrenaicus* mostly feeds. This allowed us assessing the prey selectivity of these two mammal species and the potential trophic overlap during summer in order to discuss mechanisms that could facilitate their coexistence.

Material and methods

Study area and sampling sites

Sampling was conducted in 65 sites spread over the Ariège department, a French administrative region in the Pyrenees Mountains (Fig. 1). This area exhibits relatively high occurrence of *G. pyrenaicus* (Biffi et al., 2016; Charbonnel et al., 2015, 2016), and the presence of *N. fodiens* was recently reported (Charbonnel et al., 2015). The mean elevation of the 65 sampling sites is 757.9 ± 259.3 m and varies between 375.2 m and 1755.6 m. Mean monthly stream flow equals to 1.1 ± 2.0 m³/s with a maximum of 13.2 m³/s (Charbonnel et al., 2016). Natural zones with herbaceous or shrubby vegetation ($52.1 \pm 36.1\%$), agricultural lands ($43.9 \pm 34.7\%$) and forests ($40.6 \pm 32.5\%$; Corine Land Cover    DB 2012) dominate the land cover surrounding the 65 sites. In this mountainous area, the climate is cold (mean annual air temperature = 10.4 ± 1.3   C, SAFRAN    DB) and wet (mean annual rainfall = 1141.0 ± 110.9 mm, SAFRAN    DB).

Faeces sampling and molecular genetics analyses

Faeces collection of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* were conducted twice between June and September 2015 in the 65 selected sites (Fig. 1). Skilled observers meticulously inspected each emergent item (i.e., rock, tree root or branch) along a 250 m riverbed transect. This length is a compromise between the home range (HR) size and the average distance travelled along stream channels (ADTS) during 24 h for *N. fodiens* (narrow and linear HR along a stream: $106\text{--}509$ m², ADTS: 49 ± 25 m; Cantoni, 1993; Lardet, 1988) and *G. pyrenaicus* (linear HR: ≈ 500 m; ADTS between resting sites: ≈ 250 m; Melero et al., 2012, 2014). Our sampling protocol meets the recommendations of Parry et al. (2013) who found that repeating visits in a single site rather than enlarging the sampled area allowed better detection probabilities for the Eurasian otter. It is also in agreement with Charbonnel et al. (2014) who obtained reasonable detection probabilities for *G. pyrenaicus* (0.58) in a survey of 100 m-long sections of rivers using temporal replicates. The search for faeces is a standard and effective protocol for detecting the presence of *G. pyrenaicus* (Charbonnel et al., 2014) and has also proven efficiency for *N. fodiens* (Aymerich and Gosálbez, 2004).

All putative *G. pyrenaicus* or *N. fodiens* faeces based on their colour, size, smell and position, were collected and analysed with molecular genetic tools both to confirm the species identity of the consumer and the prey consumed. Following the manufacturer's instructions, DNA was extracted from faecal samples using the Stool Mini Kit (Qiagen Inc., Hilden, Germany). PCR amplification was duplicated for each sample on a portion of the mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI; for details, see Gillet et al., 2015). Negative DNA extraction and negative PCR controls were included in the procedure. Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter Life Sciences, IN, USA) and then Quant-iTTM PicoGreen^{  } dsDNA Assay Kit (Thermo Scientific, MA, USA) were used to purify PCR products and to quantify purified amplicons respectively. After the quantification step, products were pooled at equimolarity and sent to the GIGA Genomics platform (University of Liège, Belgium) for sequencing on an ILLUMINA MiSeq V2 benchtop sequencer. Raw sequences were sorted and filtered using a script mixing FASTX Toolkit (http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit; 23-09-16) and USEARCH (Edgar, 2010) functions (see André et al., 2017 for details on bioinformatics). Sequences originating likely from extraction or PCR contaminants were excluded from further analyses. The remaining sequences were then compared with published sequences available in the online BOLD database for COI (Ratnasingham and Hebert, 2007). Sequences that had a unique best-hit were considered to be positive matches with an identity

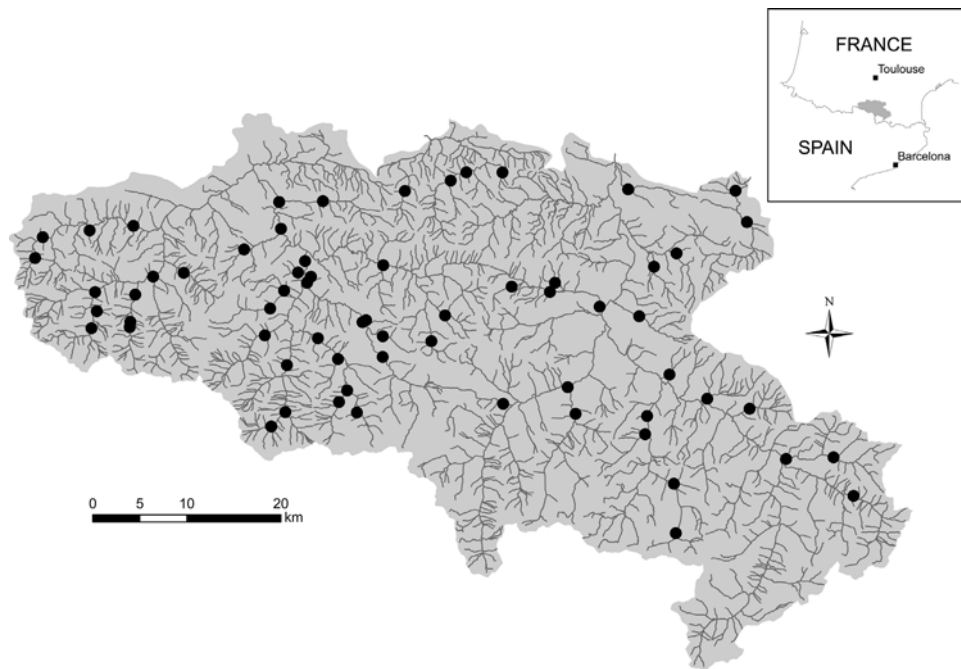


Fig. 1. Location of the study area and sampling sites (black dots) in France.

score (i) higher or equal to 90% for the identification of prey taxa at the genus level (when possible), and (ii) higher or equal to 99% for the identification of the predator at the species level.

Prey taxa were validated as potentially occurring in France and in the Pyrenees using the French National Inventory of Natural Heritage (Muséum national d'Histoire naturelle, 2003–2017) and the French Office for Insects and their Environment (OPIE-Benthos, 2017) online databases. Taxa identified as endemic of other parts of the world were kept in the analysis and designated by an asterisk (*) as they more likely correspond to a genetically similar taxon present in the Pyrenees but absent in the genetic databases. When prey taxa could not be identified at the genus level, they were grouped together at a higher taxonomic level.

Aquatic macroinvertebrates sampling

Aquatic macroinvertebrates were collected in 27 out of the 65 sites, among which *N. fodiens* and *G. pyrenaicus* were present in 19 and 25 sites, respectively (called “*Neomys* sites” and “*Galemys* sites”, respectively). *G. pyrenaicus* was detected alone in eight sites (“*Galemys* alone sites”) and both species were found to co-occur in 17 sites (“*Galemys* + *Neomys* sites”). *N. fodiens* was detected alone in two sites (“*Neomys* alone sites”).

The available habitats for aquatic macroinvertebrates were described according to 12 categories of substrate type: bryophytes, hydrophytes, helophytes, litter, twigs roots, algae, large stones (>25 cm), cobbles/pebbles (2.5–25 cm), gravel (0.2–2.5 cm), mud, sand, bedrock; and four categories of current velocity: null, slow, medium, fast. The percentage cover of each combination of substrate type/current velocity was visually estimated in each site.

Six Surber net samples (mesh size: 500 μ m, sampled area: 0.04 m²) were conducted in each site according to a stratified sampling in the dominant habitats (e.g. mainly coarse mineral substrate in high-flow facies) covering more than 5% of each stream transect in order to be representative of the site. The sampled macroinvertebrates were frozen before being sorted, counted and identified at the family level (except for Oligochaeta and Hydracarina) following Tachet et al. (2000) at the laboratory. The mean density (number of individuals/m²), and the frequency of occurrence (FO_{stream}: relative

number of Surber samples with the taxon) were then calculated for each site and invertebrate taxon.

Mean macroinvertebrates densities were compared with Wilcoxon sign-ranked tests and P-values adjusted with the Bonferroni correction, between categories of sites (i.e., *Galemys* alone sites, *Neomys* alone sites and *Galemys* + *Neomys* sites).

Diet composition and comparison between mammals

Presence or absence of prey in each faeces of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* were used to describe the diet composition of both species. The frequency of occurrence (FO_{diet}, i.e., the number of faeces containing the taxon divided by the total number of faeces) in *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* diet was calculated for each order, family and genus of invertebrates and for the different types of prey's habitat (i.e., exclusively aquatic, exclusively terrestrial or with aquatic and terrestrial stages). To compare the faeces composition between the two species, a Correspondence Analysis (CA) was applied to presence-absence data of prey in faeces at the genus level. The coordinates of each faeces on the first and second axes of the CA were compared between the two species with a Student test for homogeneous variances. Rare prey taxa, with FO_{diet} below 5% both in *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* faeces, were not included in this analysis.

To assess prey selectivity of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*, the presence of invertebrates in the faeces were considered at the site scale. When an invertebrate taxon was present in at least one faeces of the mammal species in a site, it was considered as belonging to the mammal diet in this site. Prey FO_{diet} in the faeces were then calculated for the 19 *Neomys* sites and the 25 *Galemys* sites. Data on prey availability in the streams (i.e., FO_{stream} per site from the Surber samples) and prey consumed by the predator in the site (i.e., FO_{diet} per site in the sampled faeces) at the family level were compared using the Ivlev's electivity index (Ivlev, 1961). This index ranges from −1 (i.e., avoidance of prey) indicating that the taxon is frequent in streams but never found in faeces, to 1 (i.e., active selection) when the taxon is rare in streams but found in a very high number of faeces. A zero value indicates that consumption is proportional to the amount of invertebrates available in streams. Invertebrate taxa with a mean frequency of occurrence lower than

5% in both the Surber samples (FO_{stream}) and the faeces of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* (FO_{diet}) were not considered in this analysis.

Trophic overlap between mammals

To determine the degree of trophic overlap between *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* during summer, the Pianka's dietary niche overlap index (Pianka, 1973) was calculated from the prey FO_{diet} in the faeces at the genus and family levels. This index ranges from 0 (no trophic resource used in common) to 1 (full dietary overlap).

Moreover, to test if the co-occurrence of both mammal species in a site could modify the diet of *G. pyrenaicus*, the faeces composition in prey was compared between the *Galemys* alone sites (8) and the *Galemys* + *Neomys* sites (17). The mean frequency of occurrence of each prey taxon found in the faeces of *G. pyrenaicus* (at the family level) were compared with a Wilcoxon sign-ranked test between the two categories of sites. The diet of *N. fodiens* could not be compared between *Neomys* alone sites and *Galemys* + *Neomys* sites due to a very small number of *Neomys* alone sites (2).

All statistical analyses were conducted in R 3.3.1 (R Core Team, 2014) using the *ade4* and *spaa* packages.

Results

Molecular identification of predators producing the faeces and prey contents

A total of 464 faeces were collected from the 65 sampled sites (7 ± 2 faeces per site) and analysed using molecular genetics tools. After the two PCR amplifications, a total of 2,160,447 reads were obtained. 1,348,331 reads were correctly assigned to 199 faeces (42.9%) that belonged to *G. pyrenaicus* (3 ± 2 faeces per site) and whose presence was confirmed in 58 sites. Among them, it was possible to identify prey in 184 faeces. Seventy-nine faeces (17% of faeces – 463,706 reads), including 78 faeces with diet information, belonged to *N. fodiens* (2 ± 1 faeces per site) which confirmed its presence in 39 sites. From the remaining faeces, 51 (11.0%) were assigned to 14 other host species (mammals such as *Neomys anomalus*, *Apodemus* sp., *Sorex* sp.; bats or birds). Molecular identification of predators and prey failed for 29.1% of the samples due to insufficient DNA quantity or degraded samples.

Overall diversity of prey in the predator faeces

The faeces of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* contained almost exclusively invertebrate prey except one amphibian found in one *G. pyrenaicus* faeces. Prey diversity was high with 10 and 9 classes, 30 and 33 orders (Table 1), 111 and 117 families, and 194 and 205 genera (Appendix A in the Supplementary material) for *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*, respectively. In total, 309 different genera were identified whose 178 were confirmed to occur in the Pyrenees, 95 in France and 9 were endemic of other parts of the world (e.g., Australia, America, Asia). The remaining 27 taxa could not be identified at the genus level in the databases and their distribution range is unknown.

For the two mammal species, frequently consumed prey (i.e., present in more than 5% of the faeces) represented a small proportion of the total pool of prey consumed (12.9% and 20.5% of genera eaten by *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*, respectively). The dominant prey found in the faeces of *G. pyrenaicus* were Insecta (93.5% of the faeces), Malacostraca (23.4%) and Diplopoda (21.7%). Among insects, *G. pyrenaicus* preyed more frequently on Ephemeroptera (71.2%) which included the most frequent family (Heptageniidae: 61.4%) but not the most frequent genera *Hydropsyche* (Insecta Trichoptera Hydropsychidae: 52.7%). *N. fodiens* seemed to have a more diverse diet with Diplopoda (89.7% of faeces), Insecta (83.3%),

Arachnida (47.4%), Gastropoda (25.6%) and Malacostraca (24.3%) occurring frequently in the collected faeces. The prey found the most frequently for this species belonged to the genus *Glomeris* (75.6%).

About half of *G. pyrenaicus* prey belonged to Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera orders while only 16.6% of prey belonged to these orders for *N. fodiens*. The proportion of exclusively terrestrial prey was higher for *N. fodiens* ($70.8 \pm 29.4\%$) than for *G. pyrenaicus* ($20.6 \pm 30.5\%$), while the proportion of prey with aquatic and terrestrial stages was higher for *G. pyrenaicus* ($74.6 \pm 31.4\%$) than for *N. fodiens* ($26.1 \pm 28.3\%$). Exclusively aquatic prey were marginal for both species.

Among the 309 identified genera in the faeces of both mammals, only 90 genera were consumed by both *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*. The prey taxa consumed by only one of the two species were mostly exclusively terrestrial genera (52 and 80% in *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* faeces, respectively).

Prey composition of faeces was significantly different between *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* on the first axis of the CA (Student: $t = 14.2$, $df = 149.2$, $p < 0.001$). This difference could be due to the majority of terrestrial prey in *N. fodiens* faeces in contrast with prey with both aquatic and terrestrial stages found more frequently in *G. pyrenaicus* faeces (Fig. 2).

Aquatic macroinvertebrates availability

In the 27 sites where stream invertebrates were sampled, *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* consumed respectively 81 and 88 invertebrate families in total out of which 40 and 25 families included invertebrates with at least one aquatic stage in their life cycle.

From stream invertebrates samples, a total of 51 different invertebrate families were identified (27 ± 5 per site) among which 42 families of Insecta, 1 Malacostraca family, 1 Hydracarina family, 2 Gastropoda families, 1 Bivalvia family, 1 flatworm family, 2 Clitellata families and 1 Nematodes family. Insecta taxa had the highest mean densities in the Surber samples (Fig. 3a).

Nine invertebrate families (Rhagionidae, Caenidae, Mermithidae, Planariidae, Leptoceridae, Gyrinidae, Calopterygidae, Hydrophilidae, Psephenidae) were excluded from further analyses as they were found in the Surber samples and in faeces with FO_{stream} and FO_{diet} below 5%. Conversely, one-quarter of the invertebrate families with at least one aquatic stage found in the faeces of both *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* were not found in the invertebrates samples. This concerned 9 families out of 40 for *G. pyrenaicus* and 5 out of 25 families for *N. fodiens*. However, these families had a FO_{diet} below 10% in both diets, except the family Anthomyiidae (20% in *G. pyrenaicus* diet and 10.5% in *N. fodiens* diet) and Thaumaleidae (10.5% in *N. fodiens* diet), and were thus also excluded from further analyses.

Densities of available invertebrates were not significantly different between the *Galemys* alone sites, the *Neomys* alone sites and the *Galemys* + *Neomys* sites (Wilcoxon sign-ranked tests: all adjusted $p > 0.05$) allowing the comparison of invertebrates content in faeces collected in the different categories of sites. Forty-six families and 50 families were available in *Galemys* alone sites and *Galemys* + *Neomys* sites respectively, including 45 families common to both types of sites.

Prey selectivity between the two mammals

Overall, the most frequently consumed prey by *G. pyrenaicus* corresponded to the most frequent and abundant invertebrate taxa in streams (Fig. 3a and b). Seven out of the nine most abundant prey were consumed in accordance with the frequency of occurrence and density estimated in the streams (Chironomidae, Baetidae, Heptageniidae, Gammaridae, Hydropsychidae,

Table 1
Prey taxa identified with positive matches ($\geq 80\%$) from 184 faeces of *G. pyrenaicus* and 78 faeces of *N. fodiens* collected in the study area. The frequency of occurrence (% of faeces containing the prey) is displayed. See Appendix A in the supplementary material for the full list of taxa at the family and genus level. * indicates misidentified taxa by genetic databases.

Classes	Frequency of occurrence (%)		Orders	Frequency of occurrence (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Insecta	93.5	83.3	Ephemeroptera	71.2	32.1
			Diptera	65.8	50.0
			Trichoptera	63.6	30.8
			Plecoptera	52.7	35.9
			Coleoptera	14.1	43.6
			Hemiptera	3.8	17.9
			Lepidoptera	3.3	11.5
			Hymenoptera	1.6	9.0
			Odonata	1.1	2.6
			Dermaptera	0.5	1.3
			Neuroptera	0.0	5.1
			Orthoptera	0.0	1.3
			Mecoptera	0.0	3.8
			Archaeognatha	0.0	1.3
			Amphipoda	20.7	19.2
			Isopoda	3.3	6.4
			Decapoda	0.5	0.0
Malacostraca	23.4	24.4	Glomerida	15.8	80.8
Diplopoda	21.7	89.7	Polydesmida	7.1	53.8
			Julida	4.3	43.6
			Chordeumatida	2.7	16.7
Arachnida	8.2	47.4	Araneae	3.3	25.6
			Opiliones	2.2	23.1
			Sarcoptiformes	1.1	2.6
			Trombidiformes	0.5	1.3
			Undetermined Arachnida*	0.5	1.3
			Mesostigmata	0.5	0.0
			Haplotaxida	6.0	17.9
			Stylommatophora	3.3	25.6
Clitellata	6.0	17.9	Hygrophila	1.1	0.0
Gastropoda	4.3	25.6	Entomobryomorpha	1.1	17.9
			Poduromorpha	0.0	2.6
Collembola	1.1	19.2	Symphyleona	0.0	1.3
			Anura	0.5	0.0
Amphibia	0.5	0.0	Lithobiomorpha	0.5	7.7
Chilopoda	0.5	9.0	Geophilomorpha	0.0	1.3
Maxillopoda	0.5	0.0	Sessilia	0.5	0.0
Undetermined Nemerta*	0.0	2.6	Undetermined Nemerta*	0.0	2.6

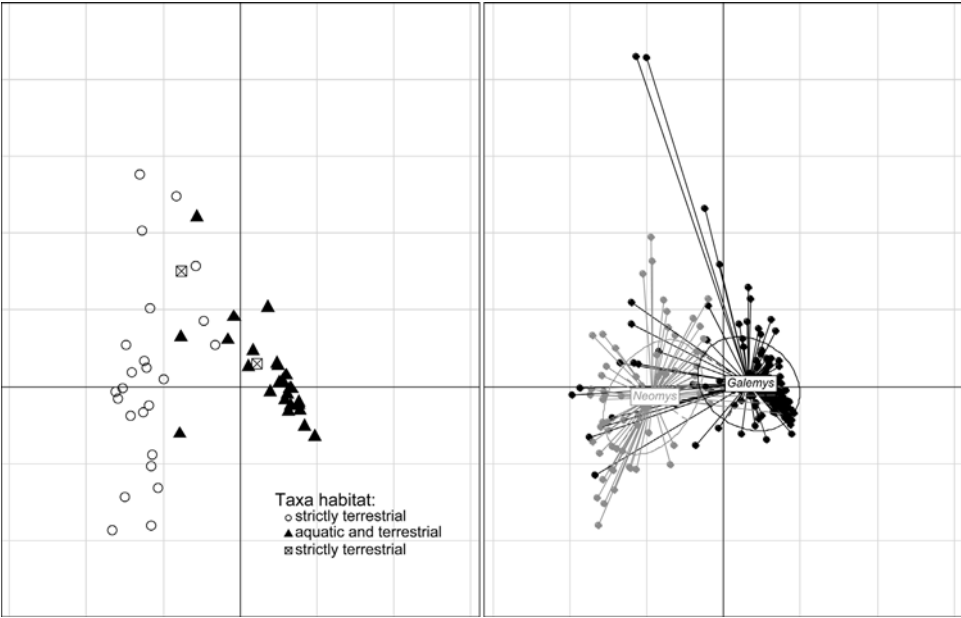


Fig. 2. Correspondence Analysis (CA) computed on the frequently used prey taxa ($FO_{diet} > 5\%$) derived from 184 *G. pyrenaicus* and 78 *N. fodiens* faeces. (a) Projections of prey taxa on the first (8.4%) and second (4.2%) axis of the CA: prey taxa are depicted differently according to the type of habitat during their life cycle. (b) Projections of *G. pyrenaicus* ("Galemys") and *N. fodiens* ("Neomys") faeces on the first factorial plane.

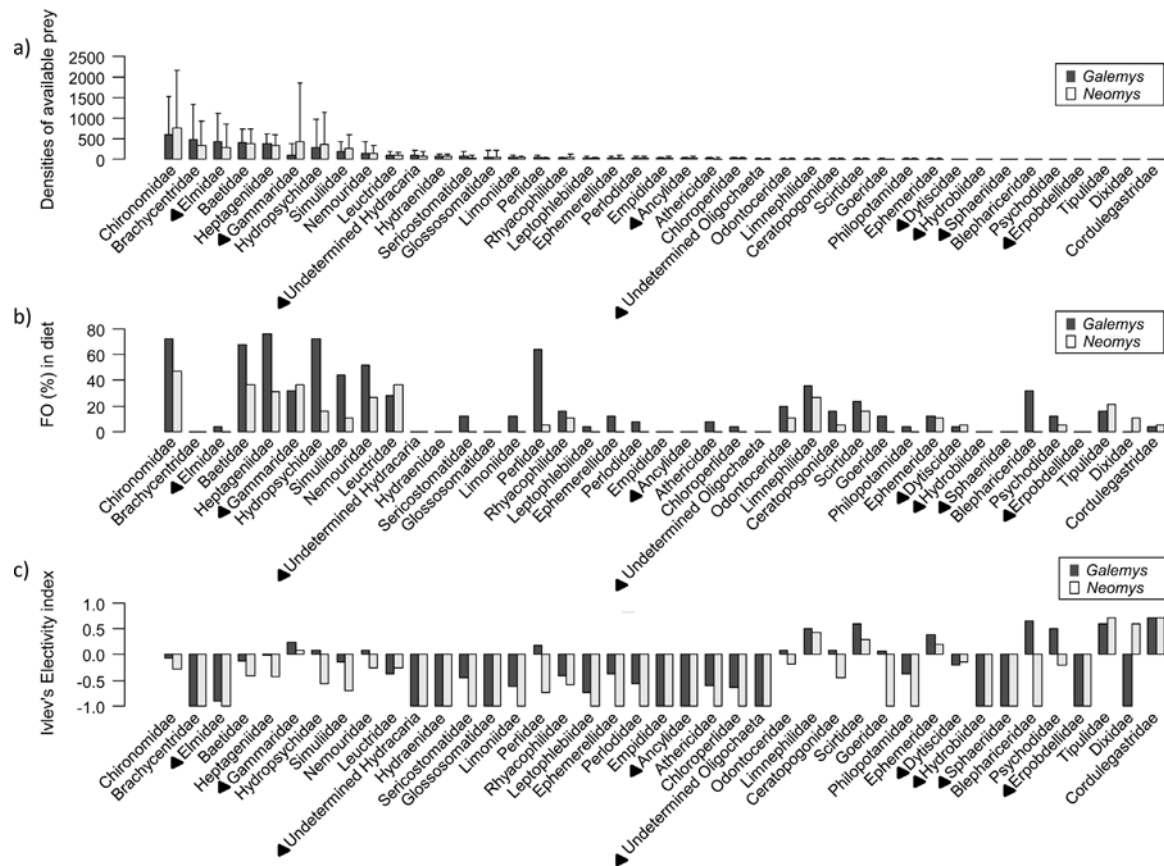


Fig. 3. Prey selectivity for *G. pyrenaicus* (Galemys; dark bars for 25 Galemys sites) and *N. fodiens* (Neomys, light bars for 19 Neomys sites). (a) Mean densities of invertebrate prey in the Surber samples for each site in Galemys and Neomys sites. (b) Frequency of occurrence of prey (FO_{diet}) in collected faeces. (c) Ivlev's electivity index. The electivity index is based on the frequency of prey in faeces relative to prey available in streams where the faeces were collected. Black triangles identify exclusively aquatic invertebrate families as opposed to families without triangles that include invertebrates with at least one aquatic stage and one terrestrial stage in their life cycle.

Simuliidae, Nemouridae; Fig. 3c). *N. fodiens* consumed Gammariidae according to their relative amount in the streams and avoided the other most abundant families.

However, most invertebrate families sampled in streams were avoided by *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* with negative Ivlev's values below −0.25 for 22 and 31 available taxa out of 41, respectively (Fig. 3c). Both *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* seemed to avoid Brachycentridae and Elmidae prey in spite of their high densities in streams. An active selection of invertebrate prey was highlighted for seven families for *G. pyrenaicus* (Cordulegastridae, Blephariceridae, Tipulidae, Scirtidae, Limnephilidae, Psychodidae, Ephemeridae) and five families for *N. fodiens* (Cordulegastridae Dixidae, Limnephilidae, Scirtidae, Tipulidae).

Trophic overlap between mammals

The dietary overlap between *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* was moderate at the genus (Pianka index = 0.4) and family (0.5) levels.

No difference in the FO_{diet} of the prey found in *G. pyrenaicus* faeces was detected at the family level between the sites with or without the presence of *N. fodiens* (Wilcoxon sign-ranked test: $V = 2748$, $p = 0.3$). When considering all consumed prey families, 72 were consumed by *G. pyrenaicus* in Galemys alone sites (38 with FO_{diet} > 5%) and 86 in Galemys + Neomys sites (44 with FO_{diet} > 5%). Only 47 taxa were consumed in both categories of sites. Ratios between numbers of rare prey (i.e., FO_{diet} < 5%) and frequent prey (i.e., FO_{diet} > 5%) in *G. pyrenaicus* diet were similar (around 50%) in Galemys alone sites and in Galemys + Neomys sites.

Discussion

Novel insights into the diet of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* during summer

This study provides additional support to the usefulness of molecular genetic tools in diet analyses, as it provides an enhanced identification of prey content from indirect signs of presence (i.e., faeces) of predators. The proportion of faeces misidentification in the field (i.e., belonging to other host species: 11%) or unidentified faeces in the laboratory (29%) are consistent with previous studies of *G. pyrenaicus* diet (Gillet, 2015) confirming the issues arising from visual identification of faeces and DNA extraction from degraded faeces.

From the 194 invertebrate genera identified in the faeces of *G. pyrenaicus* in the present study, only 61 were common with the 156 genera identified in a previous study using similar genetic methods but conducted in the whole French Pyrenees (Gillet, 2015; Biffi et al., 2017). Newly identified prey included an amphibian, aquatic and terrestrial snails, leeches, earwigs, Hydracarina, Chilopoda, Maxillopoda and Collembola.

This study also provides unprecedented insights into the summer trophic niche of *N. fodiens*, by identifying prey identity at the family and genus levels for the first time (but see at the order level: Casti n and Gosálbez, 1999; Churchfield, 1985; Churchfield and Rychlik, 2006). In accordance with previous studies conducted at a higher taxonomic level, we found that *N. fodiens* fed on terrestrial prey at a larger extent than *G. pyrenaicus*, with a dominance of terrestrial Diplopoda and Insecta in its diet. The proportion of

Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera was low (about 17%) compared to *G. pyrenaicus* (55%).

The density and species composition of stream invertebrate communities described in this study are consistent with previous reports of freshwater invertebrate fauna of the French Pyrenees (e.g., Brown et al., 2006; Finn et al., 2013). Both *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* exhibited rather non-selective foraging strategies as the most frequently consumed invertebrates were also the most frequent and abundant in the streams. This supported a generalist diet for both species in the study area although a significant number of taxa were consumed in lower or higher frequencies than expected (Fig. 3).

N. fodiens avoided a higher number of prey and actively selected a smaller number of prey than *G. pyrenaicus* in the aquatic environment. This supports the difference in trophic niches between the two species, with more terrestrial taxa in *N. fodiens* diet compared with *G. pyrenaicus*. This latter species has morphological features adapted to live in aquatic environments (e.g., webbed feet, Palmeirim, 1983; Puisségur, 1935; high diving skills: 1–4 min, Richard and Micheau, 1975 compared to 3–24 s for *N. fodiens*, Lardet, 1988; Mendes-Soares and Rychlik, 2009) that likely result in a better efficiency in the capture of aquatic prey than *N. fodiens*.

Foraging efficiency may determine prey selectivity in order to maximise individual success. It depends on the balance between the energy provided by prey consumption and the energetic costs of foraging under water. The most valuable resources may thus correspond to easy-to-catch prey with low mobility (e.g., Trichoptera) and/or high abundance (e.g., Gammaridae), soft-bodied prey that can be completely digested (e.g., in contrast with small and chitinous Hydracarina or Coleoptera, Costa et al., 2015) or large prey (Bertrand, 1994). In this study, invertebrates with hard and chitinous bodies (e.g. Elmidae, Hydracarinae Hydracarina) and hard cases made of wood (Brachycentridae) or mineral materials (Glossosomatidae, Sericostomatidae) were avoided by both *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*.

Some of our results about prey selectivity by *G. pyrenaicus* contradict previous observations by Bertrand (1994) and Santamarina (1993). For instance, Rhyacophilidae were avoided and Limnephilidae actively selected by *G. pyrenaicus* in our study whereas the opposite was observed by Bertrand (1994). Chironomidae were avoided and Sericostomatidae actively selected in Santamarina (1993) whereas we found the opposite pattern for these families. These differences may be due to different sampling methods (stomach analyses vs. digested remains in faeces vs. molecular analyses) as well as sample sizes. They may also reflect the generalist diet of *G. pyrenaicus* that may vary between regions (i.e., a catchment of Spain vs. the whole French Pyrenees vs. a sub-region of the French Pyrenees) and seasons (Santamarina, 1993). Finally, the variability in life-history traits within and between invertebrate species of the same family or genus (e.g., development stage, body size, local adaptations) may influence their exposure to predation.

Trophic overlap between mammals

The faeces and aquatic invertebrates samplings were conducted during summer when many late instars of aquatic insects have emerged from mountain streams and left the aquatic environment (Füreder et al., 2004). Invertebrate communities are dominated by small-sized invertebrates for this period. This impoverishment in prey diversity and density may exacerbate the trophic overlap between their predators, such as *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*, compared to the rest of the year. In spite of this, the Pianka's index of trophic overlap between the two species equalled 0.4 indicating a significant but rather low overlap in the summer diets. This value is consistent with a previous estimate of overlap (Casti  n and Gosálbez, 1999).

G. pyrenaicus consumed a larger number of different prey in the sites where *N. fodiens* was also present. This increase was driven by a higher consumption of terrestrial taxa but was not linked to any increase in rare prey consumption as ratios of rare prey/frequent prey were similar in sites with or without *N. fodiens*. However, no significant difference was found in diet composition of *G. pyrenaicus* between sites where *N. fodiens* was detected or not. All these results suggest no evidence of a shift of *G. pyrenaicus* diet towards sub-optimal prey in the presence of another insectivore species with similar feeding strategies.

The absence of shift in *G. pyrenaicus* diet in the presence of *N. fodiens* could result from the non-limiting trophic resources in streams and/or on terrestrial habitats during summer. Actually, the measure of niche overlap may mostly reflect the potential competition in the case of limiting resources (Abrams, 1980).

It could also be due to resource partitioning between *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*. First, asynchrony of seasonal or daily activity periods may play an important role in resource partitioning and facilitate cohabitation (e.g., Harrington et al., 2009). A temporal shift of niche has been observed in herbivores to reduce the length of the trophic overlap at waterholes during arid seasons (Valeix et al., 2007). Radiotracking conducted on a few individuals of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* seems to indicate polyphasic activity patterns (Lardet, 1988; Melero et al., 2014; Stone, 1987) with a similar timing of activity during day and night periods. This suggests that this mechanism is probably not involved in the resource partitioning between these two species.

Second, successful resource partitioning may be related to how the predators access to food resources according to their foraging strategies. The segregation of trophic niches based on differentiation of foraging modes and foraging micro-habitats is well documented among shrews (e.g., Churchfield and Rychlik, 2006; Churchfield and Sheftel, 199). First, *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* have different body size (i.e., 10–15 cm vs. 7–9 cm without the tail for *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*, respectively) and mass (i.e., 50–60 g vs. 8–17 g for *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*, respectively). Due to this difference of size, the two species could target contrasted development stage and prey size within a given taxa, as it is known to allow resource partitioning among shrew species (Churchfield et al., 1999). Second, the use of different habitat strata was also identified in small mammal communities to modulate the intensity of inter-specific competition (Casti  n and Gosálbez, 1999; Churchfield and Sheftel, 1994; Rychlik, 1997). Specialization on particular micro-habitats in streams is also known for other semi-aquatic mammals. For instance, the platypus *Ornithorhynchus anatinus* does not allocate an equal foraging effort to benthic macroinvertebrates across all habitats, its preference going to pools and littoral margins rather than riffles (McLachlan-Troup et al., 2010). The overall low selectivity, active selection or avoidance of different taxa, together with the distinct trophic niche we observed in the whole study area in *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*, suggest that they use distinct foraging micro-habitats (Casti  n and Gosálbez, 1999) within the stream and riparian mosaic. Other aquatic predators such as the brown trout *S. trutta* could have higher diet overlap with *G. pyrenaicus* due to their broad use of habitats within streams and highly opportunistic feeding strategies (Giller and Greenberg, 2015).

Methodological considerations and perspectives

While molecular methods provide an enhanced identification of prey compared to traditional methods (i.e., visual inspection of prey remains in guts or faeces), they also have some shortcomings. First, identifying many additional prey taxa with molecular tools compared to traditional methods is consistent with Clare et al. (2014) who suggest that prey occurrence data obtained from molecular methods tend to underestimate the importance of common

prey and overestimate rare prey (Clare et al., 2014; Krüger et al., 2014). Nevertheless, 20 taxa identified, such as Collembola or several genus of the Tachinidae family, are unlikely to be direct prey of *G. pyrenaicus* or *N. fodiens*, as they are part of the soil microfauna or are invertebrate parasites. Other taxa, such as some Anthomyiidae (e.g. *Polietes*) or small terrestrial Coleoptera, may have been collected with the faeces as they may develop at the larval stage or feed on scat. Finally, taxa identified as prey could have been passively ingested with the consumption of predator or scavenger invertebrates (e.g. Trichoptera, Plecoptera, Odonata). This contributes to the debate about the high sensitivity of next-generation sequencing methods and the detection of secondary predation (Sheppard et al., 2005).

Second, molecular data do not give information on the stage or size at which prey are consumed. This is a particularly strong limitation when (i) feeding strategies are adapted to the mouth morphology and size of the predator or (ii) prey exhibit important variation in habitat use during their life cycle such as many aquatic invertebrate species. Given the relative shortness of the terrestrial stage in comparison with the aquatic stage for many invertebrate species, the probability that invertebrates found in the faeces were consumed at the aquatic stage (or at the time of emergence) remains high, which is supported by previous morphological identification of prey items in faecal samples (Trichoptera; e.g., Bertrand, 1994; DuPasquier and Cantoni, 1992). The combination of molecular and traditional methods of prey identification seems thus important to bring detailed information on the identity, size and stage of eaten prey.

Third, the molecular data we used do not allow a quantitative assessment of the prey consumed (e.g. relative and absolute abundance/biomass of different taxa). Klare et al. (2011) stated that such qualitative estimates (i.e., presence-absence and frequency of occurrence of prey) tend to overestimate niche breadth and dietary overlaps between species leading potentially to unreliable conclusions. However, they also pointed out that such bias remains low when the diets of the compared species are composed of similar taxonomic groups of prey, which is the case for *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*. Moreover, the likely bias in diet estimation due to the use of frequencies of occurrence is similar between *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* which enables a reliable qualitative comparison of diet overlap and prey selection patterns in terms of prey identity. This is supported by the Pianka index of trophic niche overlap quantified in this study which is consistent with previous observations based on quantitative methods of prey estimates.

Despite those limitations, molecular methods proved efficiency in the identification of a highly diverse diet for *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* that were highlighted to exhibit a generalist feeding behaviour. This suggests that the identity of prey taxa is not the most important criteria for both mammals prey selection and that they may exhibit some tolerance to variation in prey community composition. Hence, stream community changes due to anthropogenic impacts on river ecosystems should have moderate consequences (Costa et al., 2015) as long as food resources remain abundant enough in their respective foraging habitats. However, pressures on prey communities could increase the trophic overlap between the two species as well as with others potential competitors.

This study also stressed that the presence of *N. fodiens* did not affect *G. pyrenaicus* prey selection. However, the higher proportion of exclusively terrestrial prey in *N. fodiens* diet found here compared to other dietary studies (e.g. Churchfield, 1984; DuPasquier and Cantoni, 1992) may suggest a shift in the diet of *N. fodiens* towards a more terrestrial niche in presence of *G. pyrenaicus*. The very small number of sites hosting *N. fodiens* without *G. pyrenaicus* did unfortunately prevent us to test for this potential competitive interaction.

Identifying more finely the foraging micro-habitats of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*, comparing the diet of *N. fodiens* in presence and absence of *G. pyrenaicus* and observing their behavioural interactions in the field along the year should be further investigated in the light of terrestrial invertebrates sampling and the use of dietary quantitative data (e.g. abundance or biomass of prey in scats). This would improve our knowledge about mechanisms facilitating their cohabitation or causing potential competitive interactions and their vulnerability to habitat and trophic resource alterations.

Acknowledgements

We are grateful to all people who helped collecting data in the field: C. Dupuyds, M. Alvarez, C. Lauzeral, F. Colas, F. Julien and V. Lacaze. We also thank the “Conservatoire d’Espaces Naturels Midi-Pyrénées” (CEN-MP), especially M. Némoz and F. Blanc, for their precious advice at many steps of the study. This study was funded by ANRT (Cifre n° 2011/1018), EDF (Electricité de France) and the European Union (FEDER) in the context of the LIFE+ Nature programme devoted to *G. pyrenaicus* (LIFE13NAT/FR/000092). M. Biffi was supported by a PhD fellowship granted by the “Ecole Doctorale Sciences de l’Univers, de l’Environnement et de l’Espace” (SDU2E) at the University of Toulouse.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.mambio.2017.09.001>.

References

- Abrams, P., 1980. Some comments on measuring niche overlap. *Ecology* 61, 44–49.
- André, A., Mouton, A., Millien, V., Michaux, J., 2017. Liver microbiome of *Peromyscus leucopus*, a key reservoir host species for emerging infectious diseases in North America. *Infect. Genet. Evol.* 52, 10–18.
- Aymerich, P., Gosálbez, J., 2015. Evidencias de regresión local del desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*) en los Pirineos meridionales. *Galemys* 27, 31–40.
- Aymerich, P., Gosálbez, J., 2004. La prospección de excrementos como metodología para el estudio de la distribución de los musgaños (*Neomys sp.*). *Galemys* 16, 83–90.
- Bertrand, A., 1994. Répartition géographique et écologie alimentaire du desman des Pyrénées, *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) dans les Pyrénées françaises. Thèse de doctorat. Université Paul Sabatier de Toulouse (50pp).
- Biffi, M., Charbonnel, A., Buisson, L., Blanc, F., Némoz, M., Laffaille, P., 2016. Spatial differences across the French Pyrenees in the use of local habitat by the endangered semi-aquatic Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*). *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 26, 761–774.
- Biffi, M., Gillet, F., Laffaille, P., Colas, F., Aulagnier, A., Blanc, F., Galan, M., Tiouchichine, M.-L., Némoz, M., Buisson, L., Michaux, J.R., 2017. Novel insights into the diet of the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) using next-generation sequencing molecular analyses. *J. Mammal.*, <http://dx.doi.org/10.1093/jmammal/gyx070>.
- Brown, L.E., Milner, A.M., Hannah, D.M., 2006. Stability and persistence of alpine stream macroinvertebrate communities and the role of physicochemical habitat variables. *Hydrobiologia* 560, 159–173.
- Cantoni, D., 1993. Social and spatial organization of free-ranging shrews, *Sorex coronatus* and *Neomys fodiens* (Insectivora, Mammalia). *Anim. Behav.* 45, 975–995.
- Castián, E., Gosálbez, J., 1995. Diet of *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) in the North of the Iberian peninsula. *Neth. J. Zool.* 45, 422–430.
- Castián, E., Gosálbez, J., 1999. Habitat and food preferences in a guild of insectivorous mammals in the Western Pyrenees. *Acta Theriol.* 44, 1–13.
- Charbonnel, A., D’Amico, F., Besnard, A., Blanc, F., Buisson, L., Némoz, M., Laffaille, P., 2014. Spatial replicates as an alternative to temporal replicates for occupancy modelling when surveys are based on linear features of the landscape. *J. Appl. Ecol.* 51, 1425–1433.
- Charbonnel, A., Buisson, L., Biffi, M., D’Amico, F., Besnard, A., Aulagnier, S., Blanc, F., Gillet, F., Lacaze, V., Michaux, J.R., Némoz, M., Pagé, C., Sanchez-Perez, J.M., Sauvage, S., Laffaille, P., 2015. Integrating hydrological features and genetically validated occurrence data in occupancy modelling of an endemic and endangered semi-aquatic mammal, *Galemys pyrenaicus*, in a Pyrenean catchment. *Biol. Conserv.* 184, 182–192.
- Charbonnel, A., Laffaille, P., Biffi, M., Blanc, F., Maire, A., Némoz, M., Sanchez-Perez, J.M., Sauvage, S., Buisson, L., 2016. Can recent global changes explain the

- dramatic range contraction of an endangered semi-aquatic mammal species in the French Pyrenees? PLoS One 11, e0159941.
- Churchfield, S., Rychlik, L., 2006. Diets and coexistence in *Neomys* and *Sorex* shrews in Białowieża forest, eastern Poland. J. Zool. 269, 381–390.
- Churchfield, S., Sheftel, B.L., 1994. Food niche overlap and ecological separation in a multi-species community of shrews in the Siberian taiga. J. Zool. 234, 105–124.
- Churchfield, S., Nesterenko, V.A., Shvarts, E.A., 1999. Food niche overlap and ecological separation amongst six species of coexisting forest shrews (Insectivora: soricidae) in the Russian Far East. J. Zool. 248, 349–359.
- Churchfield, S., 1984. An investigation of the population ecology of syntopic shrews inhabiting water-cress beds. J. Zool. Lond. 204, 229–240.
- Churchfield, S., 1985. The feeding ecology of the European water shrew. Mammal Rev. 15, 13–21.
- Clare, E.L., Symondson, W.O.C., Broders, H., Fabianek, F., Fraser, E.E., MacKenzie, A., Boughen, A., Hamilton, R., Willis, C.K.R., Martinez-Núñez, F., Menzies, A.K., Norquay, K.J.O., Bringham, M., Poissant, J., Rintoul, J., Barclay, R.M.R., Reimer, J.P., 2014. The diet of *Myotis lucifugus* across Canada: assessing foraging quality and diet variability. Mol. Ecol. 23, 3618–3632.
- Costa, A., Salvadio, S., Posillico, M., Matteucci, G., De Cinti, B., Romano, A., 2015. Generalisation within specialization: inter-individual diet variation in the only specialized salamander in the world. Sci. Rep. 5, 13260.
- DuPasquier, A., Cantoni, D., 1992. Shifts in benthic macroinvertebrate community and food habits of water shrew, *Neomys fodiens* (Soricidae, Insectivora). Acta Oecologica Oecol. Gener. 13, 81–99.
- Dudgeon, D., Arthington, A.H., Gessner, M.O., Kawabata, Z.-I., Knowler, D.J., Lévêque, C., Naiman, R.J., Prieur-Richard, A.-H., Soto, D., Stiassny, M.L.J., Sullivan, C.A., 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. Biol. Rev. 81, 163–182.
- Edgar, R.C., 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. Bioinforma. Oxf. Engl. 26, 2460–2461.
- Escoda, L., González-Esteban, J., Gómez, A., Castresana, J., 2017. Using relatedness networks to infer contemporary dispersal: application to the endangered mammal *Galemys pyrenaicus*. Mol. Ecol., <http://dx.doi.org/10.1111/mec.14133>.
- Füeder, L., Wallinger, M., Burger, R., 2004. Longitudinal and seasonal pattern of insect emergence in alpine streams. Aquat. Ecol. 39, 67–78.
- Fernandes, M., Herrero, J., Aulagnier, S., Amori, G., 2008. *Galemys Pyrenaicus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2 (<www.iucnredlist.org> Downloaded on 1 June 2014) <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T8826A12934876.en>.
- Finn, D.S., Khamis, K., Milner, A.M., 2013. Loss of small glaciers will diminish beta diversity in Pyrenean streams at two levels of biological organization. Glob. Ecol. Biogeogr. 22, 40–51.
- Giller, P., Greenberg, L., 2015. The relationship between individual habitat use and diet in brown trout. Freshw. Biol. 60, 256–266.
- Gillet, F., Tiouchichine, M.-L., Galan, M., Blanc, F., Némoz, M., Aulagnier, S., Michaux, J.R., 2015. A new method to identify the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) and to study its diet, using next generation sequencing from faeces. Mamm. Biol. 80, 505–509.
- Gillet, F., 2015. Génétique et biologie de la conservation du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) en France. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse (France)/Université de Liège (Belgique), 228pp.
- Gisbert, J., García-Perea, R., 2014. Historia de la regresión del desmán ibérico *Galemys pyrenaicus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) en el Sistema Central (Península Ibérica). Conservation and management of semi-aquatic mammals of southwestern Europe. Munibe Monogr. Nat. Ser., 3., pp. 19–35.
- Greenwood, A., Churchfield, S., Hickey, C., 2002. Geographical distribution and habitat occurrence of the water shrew (*Neomys fodiens*) in the Weald of South-East England. Mammal Rev. 32, 40–50.
- Haberl, W., 2002. Food storage, prey remains and notes on occasional vertebrates in the diet of the Eurasian water shrew, *Neomys fodiens*. Folia Zool. 51, 93–102.
- Harrington, L.A., Harrington, A.L., Yamaguchi, N., Thom, M.D., Ferreras, P., Windham, T.R., Macdonald, D.W., 2009. The impact of native competitors on an alien invasive: temporal niche shifts to avoid interspecific aggression? Ecology 90, 1207–1216.
- Hutchinson, G.E., 1957. Concluding remarks. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 22, 415–427.
- Ivlev, V.S., 1961. Experimental Ecology of Feeding Fishes. Yale University Press, New Haven, Connecticut (302 pp).
- Keckel, M.R., Ansoorge, H., Stefan, C., 2014. Differences in the microhabitat preferences of *Neomys fodiens* (Pennant 1771) and *Neomys anomalus* Cabrera 1907 in Saxony. Germany. Acta Theriol. 59, 485–494.
- Klare, U., Kamler, J.F., Macdonald, D.W., 2011. A comparison and critique of different scat-analysis methods for determining carnivore diet. Mammal Review 41, 294–312.
- Krüger, F., Clare, E.L., Greif, S., Siemers, B.M., Symondson, W.O.C., Sommer, R.S., 2014. An integrative approach to detect subtle trophic niche differentiation in the sympatric trawling bat species *Myotis dasycneme* and *Myotis daubentonii*. Mol. Ecol. 23, 3657–3671.
- Lardet, J.-P., 1988. Spatial behaviour and activity patterns of the water shrew *Neomys fodiens* in the field. Acta Theriol. 33, 293–303.
- Life+ Desman, 2013. Technical Application Forms – Conservation of the French Populations of *Galemys Pyrenaicus* and Its Populations on the French Pyrénées (LIFE13 NAT/FR/000092). 274 p.
- McLachlan-Troup, T.A., Dickman, C.R., Grant, T.R., 2010. Diet and dietary selectivity of the platypus in relation to season, sex and macroinvertebrate assemblages. J. Zool. 280, 237–246.
- Melero, Y., Aymerich, P., Luque-Larena, J.J., Gosálbez, J., 2012. New insights into social and space use behaviour of the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*). Eur. J. Wildl. Res. 58, 185–193.
- Melero, Y., Aymerich, P., Santulli, G., Gosálbez, J., 2014. Activity and space patterns of Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) suggest non-aggressive and non-territorial behaviour. Eur. J. Wildl. Res. 60, 707–715.
- Mendes-Soares, H., Rychlik, L., 2009. Differences in swimming and diving abilities between two sympatric species of water shrews: *Neomys anomalus* and *Neomys fodiens* (Soricidae). J. Ethol. 27, 317–325.
- Morueita-Holme, N., Fløjgaard, C., Svenning, J.-C., 2010. Climate change risks and conservation implications for a threatened small-range mammal species. PLoS One 5, e10360.
- Muséum national d'Histoire naturelle [Ed]. 2003–2017. Inventaire National du Patrimoine Naturel. <https://inpn.mnhn.fr>. Accessed 15 May 2016.
- Némoz, M., Bertrand, A., Sourie, M., Arlot, P., 2011. A french conservation action plan for the pyrenean desman *Galemys pyrenaicus*. Galemys 23, 47–50.
- OPIE-Benthos, 2017. Office Pour les Insectes et leur Environnement (<http://www.opie-benthos.fr/opie/insecte.php>). Accessed 15 May 2016).
- Palmeirim, J.M., 1983. *Galemys pyrenaicus*. Mamm. Species 207, 1–5.
- Parry, G.S., Bodger, O., McDonald, R.A., Forman, D.W., 2013. A systematic re-sampling approach to assess the probability of detecting otters *Lutra lutra* using spraint surveys on small lowland rivers. Ecol. Inform. 14, 64–70 (The analysis and application of spatial ecological data to support the conservation of biodiversity).
- Pianka, E.R., 1973. The structure of lizard communities. Annu. Rev. Ecol. Syst. 4, 53–74.
- Pianka, E.R., 1974. Niche overlap and diffuse competition. Proc. Natl. Acad. Sci. 71, 2141–2145.
- Pompanon, F., Deagle, B.E., Symondson, W.O.C., Brown, D.S., Jarman, S.N., Taberlet, P., 2012. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. Mol. Ecol. 21, 1931–1950.
- Puisségur, C., 1935. Recherches sur le Desman des Pyrénées. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse 67, 163–227.
- R Core Team, 2014. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria <http://www.R-project.org/>.
- Ratnasingham, S., Hebert, P.D.N., 2007. BOLD: the barcode of life data system (www.barcodinglife.org). Mol. Ecol. Notes 7, 355–364.
- Richard, P.B., Micheau, C., 1975. Le carrefour trachéen dans l'adaptation du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) à la vie dulçaquicole. Mammalia 39, 467–478.
- Rychlik, L., 1997. Differences in foraging behaviour between water shrews: *Neomys anomalus* and *Neomys fodiens*. Acta Theriol. 42, 351–386.
- Rychlik, L., 2000. Habitat preferences of four sympatric species of shrews. Acta Theriol. 45 (Suppl. 1), 173–190.
- Santamarina, J., Guitián, J., 1988. Quelques données sur le régime alimentaire du desman (*Galemys pyrenaicus*) dans le nord-ouest de l'Espagne. Mammalia 52, 302–307.
- Santamarina, J., 1993. Feeding ecology of a vertebrate assemblage inhabiting a stream of NW Spain (Riobo; Ulla basin). Hydrobiologia 252, 175–191.
- Sheppard, S.K., Bell, J., Sunderland, K.D., Fenlon, J., Skervin, D., Symondson, W.O.C., 2005. Detection of secondary predation by PCR analyses of the gut contents of invertebrate generalist predators. Mol. Ecol. 14, 4461–4468.
- Stone, R.D., 1987. The activity patterns of the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) (Insectivora: talpidae), as determined under natural conditions. J. Zool. 213, 95–106.
- Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M., Usseglio-Polatera, P., 2000. Invertébrés d'eau douce. Systématique, Biologie, Ecologie, CNRS Editions, Paris.
- Valeix, M., Chamailhé-Jammes, S., Fritz, H., 2007. Interference competition and temporal niche shifts: elephants and herbivore communities at waterholes. Oecologia 153, 739–748.
- Wisz, M.S., Pottier, J., Kissling, W.D., Pellissier, L., Lenoir, J., Damgaard, C.F., Dormann, C.F., Forchhammer, M.C., Grytnes, J.-A., Guisan, A., Heikkinen, R.K., Høye, T.T., Kühn, I., Luoto, M., Maiorano, L., Nilsson, M.-C., Normand, S., Öckinger, E., Schmidt, N.M., Termansen, M., Timmermann, A., Wardle, D.A., Aastrup, P., Svenning, J.-C., 2013. The role of biotic interactions in shaping distributions and realised assemblages of species: implications for species distribution modelling. Biol. Rev. 88, 15–30.

Appendix A.— List of taxa identified as *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* prey at the genus taxonomic level. Identification is based on the molecular analyses of 184 and 78 faeces of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*, respectively, collected in the Ariège department (France). The respective frequencies of occurrence of prey taxa are displayed. * indicates misidentified taxa whose distribution areas exclude the Pyrenees and France or are not known. Habitat type of each taxa is given (aq: exclusively aquatic ; aq/te: with aquatic and terrestrial stages ; te: exclusively terrestrial, und: undetermined).

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Amphibia	0.54	-	Anura	0.54	-	Ranidae	0.54	-	<i>Rana</i>	aq	0.54	-
Arachnida	8.15	47.44	Araneae	3.26	25.64	Agelenidae	0.54	1.28	<i>Eratigena</i>	te	0.54	-
									<i>Tegenaria</i>	te	-	1.28
						Anyphaenidae	1.09	-	<i>Anyphaena</i>	te	1.09	-
						Dictynidae	-	1.28	<i>Cicurina</i>	te	-	1.28
						Linyphiidae	0.54	12.82	<i>Bathypantes</i>	te	-	3.85
									<i>Centromerus</i>	te	-	1.28
									<i>Diplocephalus</i>	te	-	2.56
									<i>Porrothomma</i>	te	0.54	-
									<i>Tenuiphantes</i>	te	-	6.41
									<i>Trichopterna</i>	te	-	1.28
						Lycosidae	-	3.85	<i>Alopecosa</i>	te	-	1.28
									<i>Pardosa</i>	te	-	1.28
									<i>Trochosa</i>	te	-	1.28
						Miturgidae	-	1.28	<i>Zora</i>	te	-	1.28
						Nesticidae	0.54	-	<i>Nesticus</i>	te	0.54	-
						Tetragnathidae	0.54	3.85	<i>Metellina</i>	te	0.54	3.85
						Theridiidae	-	2.56	<i>Enoplognatha</i>	te	-	1.28
									<i>Episinus</i>	te	-	1.28
						Theridiosomatidae	0.54	-	<i>Theridiosoma</i>	te	0.54	-
						Thomisidae	-	1.28	<i>Ozyptila</i>	te	-	1.28

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Arachnida	8.15	47.44	Mesostigmata	0.54	-	Ascidae	0.54	-	Undetermined Ascidae*	und	0.54	-
			Opiliones	2.17	23.08	Ischyropsalidae	2.17	11.54	<i>Ischyropsalis</i>	te	2.17	11.54
						Nemastomatidae	1.09	10.26	<i>Nemastoma</i>	te	1.09	10.26
						Phalangiidae	-	1.28	<i>Mitopus</i>	te	-	1.28
			Sarcoptiformes	1.09	2.56	Crotoniidae	0.54	-	<i>Platynothrus</i>	te	0.54	-
						Liacaridae	-	1.28	<i>Xenillus</i>	te	-	1.28
						Oribatulidae	-	1.28	<i>Oribatula</i>	te	-	1.28
						Tegoribatidae	0.54	-	<i>Scutozetes</i> *	te	0.54	-
			Trombidiformes	0.54	1.28	Eupodidae	-	1.28	Undetermined Eupodidae*	te	-	1.28
						Trombidiidae	0.54	-	Undetermined Trombidiidae*	te	0.54	-
Undetermined Arachnida*	0.54	1.28	Undetermined Arachnida*	0.54	1.28	Undetermined Arachnida*	und	0.54	1.28			
Chilopoda	0.54	8.97	Geophilomorpha	-	1.28	Linotaeniidae	-	1.28	<i>Strigamia</i>	te	-	1.28
			Lithobiomorpha	0.54	7.69	Lithobiidae	0.54	7.69	<i>Lithobius</i>	te	0.54	7.69
Clitellata	5.98	17.95	Haplotaxida	5.98	17.95	Lumbricidae	5.98	17.95	<i>Aporrectodea</i>	te	0.54	-
									<i>Dendrobaena</i>	te	1.63	2.56
									<i>Dendrodrilus</i>	te	-	1.28
									<i>Eisenia</i>	te	-	1.28
									<i>Eiseniella</i>	te	2.17	1.28
									<i>Lumbricus</i>	te	1.09	7.69
									<i>Octolasion</i>	te	0.54	2.56
									<i>Satchellius</i>	te	-	1.28
									Undetermined Lumbricidae*	te	-	2.56
Collembola	1.09	19.23	Entomobryomorpha	1.09	17.95	Isotomidae	1.09	3.85	<i>Desoria</i>	te	-	2.56
									<i>Isotomiella</i>	te	-	1.28
									Undetermined Isotomidae*	te	1.09	-
			Poduromorpha	-	2.56	Tomoceridae	-	14.10	<i>Tomocerus</i>	te	-	5.13
									Undetermined Tomoceridae*	te	-	10.26
									Undetermined Neanuridae*	te	-	2.56

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Collembola	1.09	19.23	Symphyleona	-	1.28	Bourletiellidae	-	1.28	Undetermined Bourletiellidae*	te	-	1.28
Diplopoda	21.74	89.74	Chordeumatida	2.72	16.67	Attemsidae	-	1.28	<i>Schubartia</i>	te	-	1.28
						Craspedosomatidae	-	3.85	<i>Craspedosoma</i>	te	-	3.85
						Mastigophorophyllidae	0.54	1.28	<i>Haploporatia</i> *	te	0.54	1.28
						Opisthocheiridae	2.17	10.26	<i>Ceratospys</i>	te	2.17	10.26
			Glomerida	15.76	80.77	Doderiidae	7.61	48.72	<i>Trachysphaera</i>	te	7.61	48.72
						Glomeridae	10.87	75.64	<i>Glomeris</i>	te	10.87	75.64
						Glomeridellidae	-	1.28	<i>Glomeridella</i>	te	-	1.28
			Julida	4.35	43.59	Julidae	4.35	43.59	<i>Cylindroiulus</i>	te	0.54	1.28
									<i>Julus</i>	te	3.26	34.62
									<i>Leptoiulus</i>	te	0.54	12.82
									<i>Ommatoiulus</i>	te	-	1.28
									<i>Ophiulus</i>	te	-	1.28
									<i>Tachypodoiulus</i>	te	0.54	5.13
			Polydesmida	7.07	53.85	Polydesmidae	7.07	53.85	<i>Polydesmus</i>	te	4.89	43.59
									Undetermined Polydesmidae*	te	2.72	21.80
Gastropoda	4.35	25.64	Hygrophila	1.09	-	Ancylidae	1.09	-	<i>Ancylus</i>	aq	1.09	-
			Stylommatophora	3.26	25.64	Agriolimacidae	-	1.28	<i>Deroceras</i>	te	-	1.28
						Arionidae	1.09	15.39	<i>Arion</i>	te	1.09	15.39
						Cochlicopidae	-	1.28	<i>Cochlicopa</i>	te	-	1.28
						Halitidae	-	1.28	<i>Discus</i>	te	-	1.28
						Helicidae	1.63	5.13	<i>Cepaea</i>	te	1.63	3.85
									<i>Helicodonta</i>	te	-	1.28
						Limacidae	-	3.85	<i>Lehmannia</i>	te	-	3.85
						Oxychilidae	-	1.28	<i>Daudebardia</i>	te	-	1.28
						Punctidae	0.54	-	<i>Punctum</i>	te	0.54	-
Insecta	93.48	83.33	Archaeognatha	-	1.28	Undetermined Archaeognatha*	-	1.28	Undetermined Archaeognatha*	te	-	1.28

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Insecta	93.48	83.33	Coleoptera	14.13	43.59	Brentidae	-	1.28	<i>Protapion</i>	te	-	1.28
						Buprestidae	0.54	-	<i>Agilus</i>	te	0.54	-
						Cantharidae	0.54	1.28	<i>Ancistronycha</i>	te	0.54	1.28
						Carabidae	1.09	21.80	<i>Abax</i>	te	-	3.85
									<i>Agonum</i>	te	0.54	-
									<i>Badister</i>	te	-	1.28
									<i>Bembidion</i>	te	-	5.13
									<i>Carabus</i>	te	-	2.56
									<i>Paranchus</i>	te	-	2.56
									<i>Pterostichus</i>	te	0.54	7.69
									<i>Synuchus</i>	te	-	1.28
						Curculionidae	0.54	-	<i>Stereonychus</i>	te	0.54	-
						Dryopidae	1.09	-	<i>Pomatinus</i>	te	1.09	-
						Dytiscidae	0.54	2.56	<i>Agabus</i>	aq	0.54	-
									<i>Laccophilus</i>	aq	-	1.28
									<i>Platambus</i>	aq	-	1.28
						Elmidae	1.09	1.28	<i>Esolus</i>	aq	0.54	-
									<i>Limnius</i>	aq	0.54	-
									<i>Riolus</i>	aq	-	1.28
						Geotrupidae	-	1.28	<i>Anoplotrupes</i>	te	-	1.28
						Gyrinidae	-	1.28	<i>Orectochilus</i>	aq	-	1.28
						Scarabaeidae	0.54	-	<i>Aphodius</i>	te	0.54	-
						Scirtidae	7.61	12.82	<i>Elodes</i>	aq/te	7.07	11.54
									<i>Hydrocyphon</i>	aq/te	0.54	1.28
						Silphidae	-	2.56	<i>Phosphuga</i>	te	-	2.56
						Staphylinidae	3.26	11.54	<i>Discerota</i>	te	1.09	-
									<i>Ocalea</i>	te	1.09	2.56
									<i>Ocypus</i>	te	-	5.13

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Insecta	93.48	83.33	Coleoptera	14.13	43.59	Staphylinidae	3.26	11.54	<i>Philonthus</i>	te	-	1.28
									<i>Quedius</i>	te	0.54	1.28
									<i>Rugilus</i>	te	0.54	-
									<i>Tachinus</i>	te	-	2.56
									<i>Xantholinus</i>	te	-	1.28
			Dermaptera	0.54	1.28	Tenebrionidae	0.54	-	<i>Cteniopos</i>	te	0.54	-
						Forficulidae	0.54	1.28	<i>Forficula</i>	te	0.54	1.28
			Diptera	65.76	50.00	Agromyzidae	0.54	-	Undetermined Agromyzidae*	te	0.54	-
						Anisopodidae	-	1.28	<i>Sylvicola</i>	te	-	1.28
						Anthomyiidae	5.44	6.41	<i>Botanophila</i>	te	0.54	-
									<i>Delia</i>	te	0.54	-
									<i>Emmesomyia</i>	te	-	1.28
									<i>Helina</i>	te	0.54	-
									<i>Hydrophoria</i>	te	1.09	-
									<i>Hydrotaea</i>	te	0.54	-
									<i>Hylemya</i>	te	0.54	1.28
									<i>Limnophora</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Pegohylemyia</i>	te	0.54	-
									<i>Polietes</i>	te	-	1.28
									Undetermined Anthomyiidae*	te	1.09	1.28
						Athericidae	1.09	-	<i>Atherix</i>	aq/te	1.09	-
						Bibionidae	-	1.28	<i>Bibio</i>	te	-	1.28
						Blephariceridae	7.07	1.28	Undetermined Blephariceridae*	aq/te	7.07	1.28
						Calliphoridae	0.54	2.56	<i>Pollenia</i>	te	0.54	2.56
						Ceratopogonidae	3.26	1.28	<i>Atrichopogon</i>	aq/te	1.63	-
									<i>Culicoides</i>	aq/te	1.09	-
									Undetermined Ceratopogonidae*	und	1.09	1.28

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Insecta	93.48	83.33	Diptera	65.76	50.00	Chironomidae	41.85	29.49	<i>Chironomini</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Conchapelopia</i>	aq/te	1.09	1.28
									<i>Corynoneura</i>	aq/te	3.26	1.28
									<i>Cricotopus</i>	aq/te	8.15	1.28
									<i>Dicrotendipes</i>	aq/te	2.17	2.56
									<i>Diplocladius</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Eukiefferiella</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Limnophyes</i>	aq/te	3.26	-
									<i>Macropelopia</i>	aq/te	0.54	2.56
									<i>Metriocnemus</i>	aq/te	1.63	-
									<i>Micropsectra</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Nilotanypus</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Orthocladius</i>	aq/te	5.98	-
									<i>Pagastia*</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Paracricotopus</i>	aq/te	1.09	1.28
									<i>Parametriocnemus</i>	aq/te	3.26	2.56
									<i>Paratanytarsus</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Paratrichocladius</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Polypedilum</i>	aq/te	0.54	5.13
									<i>Prodiamesa</i>	aq/te	0.54	1.28
									<i>Pseudosmittia</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Rheocricotopus</i>	aq/te	1.63	-
									<i>Rheotanytarsus</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Smittia</i>	aq/te	2.17	1.28
									<i>Synorthocladius</i>	aq/te	1.09	2.56
									<i>Thienemannia</i>	aq/te	2.17	-
									<i>Thienemanniella</i>	aq/te	1.09	-
									<i>Tokunagaia</i>	aq/te	1.09	-

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Insecta	93.48	83.33	Diptera	65.76	50.00	Chironomidae	41.85	29.49	<i>Tvetenia</i>	aq/te	6.52	2.56
									Undetermined Chironomidae*	aq/te	18.48	16.67
									<i>Zavrelimyia</i>	aq/te	-	1.28
						Chloropidae	-	1.28	<i>Calamoncosis</i>	aq/te	-	1.28
						Culicidae	-	1.28	<i>Anopheles</i>	aq/te	-	1.28
						Dixidae	-	6.41	Undetermined Dixidae*	aq/te	-	6.41
						Dolichopodidae	1.09	-	<i>Gymnopternus</i>	te	1.09	-
									<i>Sybistroma</i>	te	0.54	-
						Drosophilidae	0.54	-	<i>Drosophila</i>	te	0.54	-
						Dryomyzidae	0.54	-	<i>Dryomyza</i>	te	0.54	-
						Empididae	2.17	1.28	<i>Chelifera</i>	aq/te	1.09	-
									<i>Clinocera</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Empis</i>	te	0.54	-
									<i>Hilara</i>	te	0.54	-
									Undetermined Empididae*	und	0.54	-
									<i>Wiedemannia</i>	aq/te	0.54	-
						Keroplastidae	-	1.28	<i>Keroplatus</i>	te	-	1.28
						Lauxaniidae	0.54	2.56	<i>Minettia</i>	te	-	2.56
									<i>Poecilolycia</i>	te	0.54	-
						Limoniidae	2.17	7.69	<i>Dicranota</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Ellipteroides</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Eloeophila</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Lipsothrix</i>	te	0.54	-
									<i>Molophilus</i>	te	0.54	3.85
									<i>Pedicia</i>	aq/te	0.54	1.28
									Undetermined Limoniidae*	und	-	1.28
						Lonchopteridae	1.09	7.69	<i>Lonchoptera</i>	te	1.09	7.69

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Insecta	93.48	83.33	Diptera	65.76	50.00	Mycetophilidae	3.80	2.56	<i>Gnoriste</i>	te	3.26	-
									<i>Mycomya</i>	te	-	1.28
									<i>Sticholeia*</i>	te	0.54	1.28
						Opetiidae	-	5.13	<i>Opetia</i>	te	-	5.13
						Phaeomyiidae	-	1.28	<i>Pelidnoptera</i>	te	-	1.28
						Phoridae	0.54	1.28	<i>Megaselia</i>	te	0.54	-
									Undetermined Phoridae*	te	-	1.28
						Pipunculidae	-	1.28	<i>Pipunculus</i>	te	-	1.28
						Platystomatidae	1.63	-	<i>Plagiosternopterina*</i>	te	1.63	-
						Psilidae	1.09	-	<i>Psila</i>	te	1.09	-
						Psychodidae	7.61	2.56	<i>Pericoma</i>	aq/te	1.09	1.28
									<i>Pneumia</i>	aq/te	1.63	1.28
									<i>Psychoda</i>	aq/te	4.35	-
									<i>Ulomyia</i>	aq/te	0.54	-
									Undetermined Psychodidae*	aq/te	0.54	1.28
						Ptychopteridae	0.54	-	<i>Ptychoptera</i>	aq/te	0.54	-
						Sarcophagidae	1.09	-	<i>Sarcophaga</i>	te	1.09	-
						Sciomyzidae	-	1.28	<i>Euthycera</i>	te	-	1.28
						Simuliidae	17.94	3.85	<i>Simulium</i>	aq/te	17.94	3.85
						Stratiomyidae	0.54	10.26	<i>Beris</i>	te	-	1.28
									Undetermined Stratiomyidae*	te	0.54	8.97
						Syrphidae	1.09	-	<i>Eristalis</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Sphaerophoria</i>	te	0.54	-
						Tabanidae	0.54	-	<i>Chrysops</i>	aq/te	0.54	-
						Tachinidae	3.26	3.85	<i>Archytas*</i>	te	-	1.28
									<i>Ceromya</i>	te	0.54	-
									<i>Macquartia</i>	te	0.54	-
									<i>Nemoraea</i>	te	0.54	-

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Insecta	93.48	83.33	Diptera	65.76	50.00	Tachinidae	3.26	3.85	<i>Ocytata</i>	te	0.54	-
									<i>Phryxe</i>	te	-	1.28
									<i>Senometopia</i>	te	-	1.28
									<i>Siphona</i>	te	1.63	-
						Thaumaleidae	0.54	3.85	<i>Thaumalea</i>	aq/te	0.54	3.85
						Tipulidae	3.80	7.69	<i>Dolichocheza</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Nephrotoma</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Tipula</i>	aq/te	3.26	6.41
						Undetermined Diptera*	2.17	-	Undetermined Diptera*	und	2.17	-
			Ephemeroptera	71.20	32.05	Baetidae	42.39	19.23	<i>Baetis</i>	aq/te	42.39	19.23
						Ephemerellidae	2.17	2.56	<i>Ephemerella</i>	aq/te	2.17	2.56
						Ephemeridae	7.61	5.13	<i>Ephemer</i>	aq/te	7.61	5.13
						Heptageniidae	61.41	17.95	<i>Ecdyonurus</i>	aq/te	21.74	7.69
									<i>Electrogena</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Epeorus</i>	aq/te	50.54	6.41
									<i>Rhithrogena</i>	aq/te	34.78	8.97
						Leptophlebiidae	1.09	-	<i>Habrophlebia</i>	aq/te	1.09	-
			Hemiptera	3.80	17.95	Cercopidae	-	2.56	<i>Aphrophora</i>	te	-	1.28
									<i>Philaenus</i>	te	-	1.28
						Cicadellidae	-	1.28	<i>Planaphrodes</i>	te	-	1.28
						Flatidae	0.54	2.56	Undetermined Flatidae*	te	0.54	2.56
						Gerridae	0.54	-	<i>Aquarius</i>	aq	0.54	-
						Miridae	0.54	-	<i>Stenodema</i>	te	0.54	-
						Nabidae	-	1.28	<i>Himacerus</i>	te	-	1.28
						Pentatomidae	1.09	7.69	<i>Pentatoma</i>	te	1.09	6.41
									<i>Troilus</i>	te	-	1.28
						Rhyparochromidae	-	1.28	<i>Drymus</i>	te	-	1.28
						Saldidae	0.54	-	<i>Chartoscirta</i>	te	0.54	-

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Insecta	93.48	83.33	Hemiptera	3.80	17.95	Veliidae	1.09	6.41	<i>Velia</i>	aq	1.09	6.41
			Hymenoptera	1.63	8.97	Braconidae	-	1.28	<i>Macrocentrus</i>	te	-	1.28
						Formicidae	1.09	5.13	<i>Lasius</i>	te	0.54	-
									<i>Myrmica</i>	te	0.54	5.13
						Ichneumonidae	-	1.28	<i>Gelis</i>	te	-	1.28
						Platygastridae	0.54	-	Undetermined Platygastridae*	te	0.54	-
						Tenthredinidae	-	1.28	<i>Allantus</i>	te	-	1.28
			Lepidoptera	3.26	11.54	Crambidae	-	1.28	<i>Nomophila</i>	te	-	1.28
						Drepanidae	0.54	-	<i>Ochropacha</i>	te	0.54	-
						Erebidae	0.54	1.28	<i>Hypena</i>	te	-	1.28
									<i>Lymantria</i>	te	0.54	-
						Gelechiidae	-	1.28	<i>Acompsia</i>	te	-	1.28
						Geometridae	1.63	3.85	<i>Hypomecis</i>	te	0.54	-
									<i>Nemoria</i> *	te	1.09	1.28
									<i>Plagodis</i>	te	-	1.28
									<i>Timandra</i>	te	-	1.28
						Lasiocampidae	0.54	-	<i>Malacosoma</i>	te	0.54	-
						Noctuidae	-	5.13	<i>Euplexia</i>	te	-	1.28
									<i>Melanchra</i>	te	-	1.28
									<i>Ochropleura</i>	te	-	1.28
									<i>Xestia</i>	te	-	1.28
			Mecoptera	-	3.85	Panorpidae	-	3.85	<i>Panorpa</i>	te	-	3.85
			Neuroptera	-	5.13	Coniopterygidae	-	1.28	<i>Coniopteryx</i>	te	-	1.28
						Hemerobiidae	-	3.85	<i>Hemerobius</i>	te	-	3.85
			Odonata	1.09	2.56	Calopterygidae	0.54	-	<i>Calopteryx</i>	aq/te	0.54	-
						Cordulegastridae	0.54	2.56	<i>Cordulegaster</i>	aq/te	0.54	2.56
			Orthoptera	-	1.28	Tettigoniidae	-	1.28	<i>Meconema</i>	te	-	1.28

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Insecta	93.48	83.33	Plecoptera	52.72	35.90	Chloroperlidae	0.54	-	<i>Siphonoperla</i>	aq/te	0.54	-
						Leuctridae	9.24	12.82	<i>Leuctra</i>	aq/te	9.24	12.82
						Nemouridae	26.09	19.23	<i>Amphinemura</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Nemoura</i>	aq/te	-	1.28
									<i>Protonemura</i>	aq/te	26.09	17.95
									Undetermined Nemouridae*	aq/te	0.54	-
									<i>Zapada</i> *	aq/te	0.54	-
						Perlidae	33.15	7.69	<i>Dinocras</i>	aq/te	13.04	3.85
									<i>Eccoptura</i> *	aq/te	-	2.56
									<i>Perla</i>	aq/te	24.46	5.13
						Perlodidae	4.89	1.28	<i>Besdolus</i>	aq/te	0.54	-
									<i>Isoperla</i>	aq/te	4.35	-
									<i>Perlodes</i>	aq/te	0.54	1.28
						Pteronarcyidae	5.98	-	<i>Pteronarcys</i> *	aq/te	5.98	-
						Taeniopterygidae	1.09	-	<i>Brachyptera</i>	aq/te	1.09	-
			Trichoptera	63.59	30.77	Brachycentridae	0.54	-	<i>Brachycentrus</i>	aq/te	0.54	-
						Glossosomatidae	0.54	-	<i>Glossosoma</i>	aq/te	0.54	-
						Goeridae	2.17	-	<i>Silo</i>	aq/te	2.17	-
						Hydropsychidae	53.80	8.97	<i>Diplectrona</i>	aq/te	1.09	1.28
									<i>Hydropsyche</i>	aq/te	52.72	7.69
						Leptoceridae	0.54	-	<i>Adicella</i>	aq/te	0.54	-
						Limnephilidae	15.22	16.67	<i>Allogamus</i>	aq/te	1.09	3.85
									<i>Annitella</i>	aq/te	3.26	3.85
									<i>Chaetopterygopsis</i>	aq/te	1.09	2.56
									<i>Chaetopteryx</i>	aq/te	5.44	7.69
									<i>Halesus</i>	aq/te	5.44	2.56
									<i>Potamophylax</i>	aq/te	4.35	3.85
									<i>Stenophylax</i>	aq/te	-	1.28

Classes	Frequency of occurrence in diet (%)		Orders	Frequency of occurrence in diet (%)		Families	Frequency of occurrence in diet (%)		Genera	Habitat	Frequency of occurrence in diet (%)	
	<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>		<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>			<i>G. pyrenaicus</i>	<i>N. fodiens</i>
Insecta	93.48	83.33	Trichoptera	63.59	30.77	Odontoceridae	11.96	3.85	<i>Odontocerum</i>	aq/te	11.96	3.85
						Philopotamidae	3.80	1.28	<i>Philopotamus</i>	aq/te	3.80	1.28
						Rhyacophilidae	7.07	5.13	<i>Rhyacophila</i>	aq/te	7.07	5.13
						Sericostomatidae	4.89	1.28	<i>Sericostoma</i>	aq/te	4.89	1.28
Malacostraca	23.37	24.36	Amphipoda	20.65	19.23	Gammaridae	20.65	19.23	<i>Gammarus</i>	aq	20.65	19.23
			Decapoda	0.54	-	Astacidae	0.54	-	<i>Austropotamobius</i>	aq	0.54	-
			Isopoda	3.26	6.41	Armadillidiidae	1.63	3.85	<i>Armadillidium</i>	te	1.63	3.85
						Philosciidae	0.54	1.28	<i>Philoscia</i>	te	0.54	1.28
						Porcellionidae	0.54	-	<i>Porcellio</i>	te	0.54	-
						Trichoniscidae	0.54	1.28	<i>Trichoniscus</i>	te	0.54	1.28
Maxillopoda	0.54	-	Sessilia	0.54	-	Chthamalidae	0.54	-	<i>Chthamalus</i>	aq	0.54	-
Undetermined Nemerta*	-	2.56	Undetermined Nemerta*	-	2.56	Undetermined Nemerta*	-	2.56	Undetermined Nemerta*	aq	-	2.56

CHAPITRE 6.

Comparaison des micro-habitats de chasse du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique à l'aide des traits biologiques et écologiques de leurs proies

6.1. RESUME DU CHAPITRE

Le chapitre précédent a mis en évidence que le desman des Pyrénées et la crossope aquatique consomment les invertébrés aquatiques les plus abondants et les plus fréquents dans les rivières d'Ariège, suggérant une stratégie alimentaire plutôt généraliste. Les deux espèces ont également un recouvrement trophique faible mais non négligeable, avec néanmoins des proies évitées ou activement sélectionnées différentes. Une ségrégation spatiale de la niche trophique des deux mammifères, qui chasseraient dans des habitats de rivière différents, pourrait expliquer ce résultat.

L'observation directe et *in situ* des stratégies de chasse de ces deux mammifères est délicate du fait de leurs mœurs relativement discrètes avec des périodes d'activité nocturnes et de la très fine résolution spatiale nécessaire à l'observation de ces stratégies. Pour pallier ces difficultés, une approche indirecte basée sur les caractéristiques biologiques et écologiques (i.e. profils de traits) des proies aquatiques de ces deux prédateurs a été mise en place. En effet, les conditions environnementales agissent comme des filtres sur les traits des espèces (Figure 6-1), qui peuvent donc être utilisés pour expliquer la distribution locale des organismes (Usseglio-Polatera *et al.*, 2000b). L'étude des traits des communautés de proies du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique pourrait donc permettre de mettre en évidence les micro-habitats, à très fine résolution spatiale, dans lesquels les proies sont présentes et où les prédateurs sont susceptibles de les chasser activement.

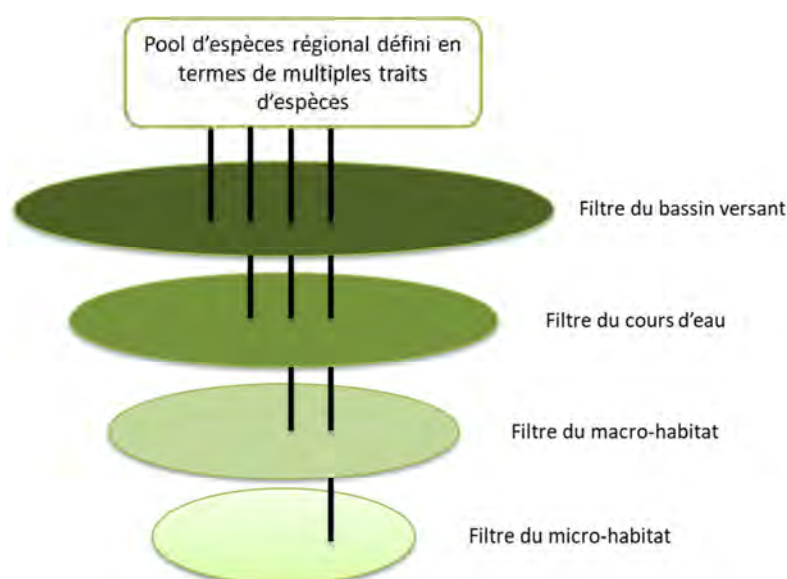


Figure 6-1 : Filtres environnementaux à différentes échelles spatiales hiérarchisées qui sélectionnent les espèces en termes de présence et d'abondance en fonction des traits qui leur permettent de passer ces filtres. Les espèces présentes à l'échelle fine du micro-habitat possèdent toutes les traits adaptés aux conditions du bassin versant, du cours d'eau et du macro-habitat au sein desquels ce micro-habitat est inclus (modifié depuis Poff, 1997).

L'objectif de ce chapitre est donc d'identifier les micro-habitats de chasse du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique et de mettre en évidence une éventuelle ségrégation spatiale des ressources trophiques du milieu aquatique entre les deux espèces. Cet objectif peut être atteint grâce à l'utilisation combinée :

- des méthodes de génétique moléculaire détaillées dans les chapitres précédents afin d'optimiser l'identification des proies des deux mammifères ;
- de l'étude des traits biologiques et écologiques des proies afin d'identifier les profils de traits des communautés de proies aquatiques du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique, tout en s'affranchissant de la composition taxonomique des régimes alimentaires qui peut varier d'une région à une autre (Feio *et al.*, 2010) ou selon les conditions environnementales locales (*cf.* chapitre 4) ;
- d'un échantillonnage des proies aquatiques potentiellement disponibles dans le milieu afin d'étudier une éventuelle sélectivité des prédateurs pour un habitat de chasse particulier.

Le régime alimentaire du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique, ainsi que les communautés d'invertébrés aquatiques des habitats dominants des cours d'eau, ont été déterminés pour 31 tronçons de rivière du département de l'Ariège. Les fréquences d'occurrence des proies dans les régimes alimentaires des deux mammifères et la densité relative des invertébrés aquatiques dans le milieu ont été utilisées pour pondérer une base de données de huit traits biologiques et écologiques des invertébrés aquatiques (i.e. taille maximale, stade aquatique, mode d'alimentation, mode de locomotion et relation au substrat, préférendum de microhabitats, préférendum de vitesse de courant, degré de trophie, valeur saprobiale). Ces traits ont été sélectionnés pour leur pertinence à décrire les types de proies et les habitats de chasse du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique. Les profils de traits caractéristiques des communautés de proies consommées par les deux prédateurs et des invertébrés présents dans les rivières ont ainsi pu être obtenus.

Les types de proies aquatiques les plus consommées par les deux mammifères correspondent globalement aux profils de traits des proies les plus présentes dans les cours d'eau. Ce résultat est cohérent avec ceux du chapitre précédent qui soulignait l'absence de sélectivité du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique pour la majeure partie de leurs proies aquatiques en termes de taxonomie. Les proies les plus fréquentes dans les rivières sont des invertébrés de taille moyenne, rampant sur le substrat des rivières, brouteurs ou déchiqueteurs, et ayant une affinité pour les substrats plutôt grossiers, les vitesses de courant faibles à fortes ainsi qu'une certaine sensibilité à la pollution organique. Cependant, la niche de traits disponibles n'est pas entièrement utilisée par les

deux mammifères qui préfèrent certaines caractéristiques des proies. Par exemple, le desman des Pyrénées cible les proies qui occupent des eaux relativement peu polluées alors que la crossope aquatique semble préférer celles qui se trouvent dans les zones d'accumulation de litière et de sédiments fins où le courant y est très faible. Les différences entre les profils de proies consommées et de proies disponibles dans les cours d'eau sont plus importantes pour la crossope aquatique que pour le desman des Pyrénées, suggérant un comportement légèrement plus spécialiste pour la crossope aquatique. Cette espèce semble préférer les zones littorales de rivières comme micro-habitats de chasse.

Cette étude a également mis en évidence l'existence d'un recouvrement trophique très important des profils de traits des proies aquatiques consommées par les deux mammifères (Pianka, 1973), bien plus grand que celui mesuré au niveau taxonomique (*cf.* chapitre 5). Ce résultat est cohérent avec les patrons bien connus de redondance fonctionnelle au sein de groupes taxonomiques (Rosenfeld, 2002). Toutefois, ce recouvrement trophique reste constant quelle que soit la largeur de la niche de traits des proies présentes dans les rivières réfutant ainsi l'hypothèse selon laquelle le recouvrement trophique pourrait être plus important lorsque les ressources alimentaires sont moins diversifiées. Enfin, il est à noter que les différences constatées entre le profil des communautés de proies du desman des Pyrénées et celui de la crossope aquatique concernent les exigences écologiques des proies en termes de micro-habitats dans les cours d'eau (i.e. type de substrat et vitesse de courant) et non leurs caractéristiques biologiques. Ainsi, l'ensemble de ces résultats suggère une ségrégation spatiale de l'utilisation des ressources trophiques disponibles dans les cours d'eau. Le desman des Pyrénées semble se nourrir préférentiellement dans les zones de courant rapide et de substrats grossiers tandis que la crossope aquatique aurait tendance à cibler les eaux plus calmes. Il est néanmoins nécessaire de confirmer ces résultats par l'échantillonnage des proies potentielles strictement terrestres, qui n'ont pas été prises en compte pour cette étude basée sur les traits, mais qui sont consommées de façon non négligeable par ces mammifères, notamment par la crossope aquatique (*cf.* chapitres 4 et 5).

Cette étude va également au-delà de l'étude de la ségrégation spatiale des niches trophiques du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique. En effet, la triple approche utilisée ici semble appropriée pour étudier les micro-habitats de chasse et les patrons d'interactions trophiques d'autres prédateurs difficiles à étudier et pour lesquels seuls des indices indirects de présence (i.e. fèces) sont disponibles, dans la mesure où les marqueurs génétiques des espèces d'intérêt ont été développés et où les traits des proies de ces espèces sont connus. Les informations obtenues sur le micro-habitat de chasse préférentiel des prédateurs peuvent apporter de nouvelles pistes pour la conservation de ces espèces afin (i) de pouvoir cibler plus précisément leurs habitats de chasse par

des mesures de gestion et (ii) d'identifier les causes potentielles de déclin des populations si ces micro-habitats sont altérés.

Les résultats de ce chapitre sont détaillés dans l'article scientifique « Use of prey biological and ecological traits to assess foraging habitat of predators » en préparation.

6.2. ARTICLE 4

Use of prey biological and ecological traits to assess foraging habitat of predators

Marjorie BIFFI¹, Laëtitia BUISSON¹, Fanny COLAS², Pascal LAFFAILLE¹

¹*EcoLab, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9, France.*

²*Irstea, équipe Freshco, UR Recover, Pôle AFB-Irstea Hydroécologie des plans d'eau, F-13182, Aix-en-Provence, France*

En préparation.

Abstract

Recent advances in molecular techniques have made it possible to identify prey species from DNA fragments contained in faeces. In parallel, trait-based approaches are increasingly being used in studies from the organism to the ecosystem level as species traits may explain the local distribution of organisms and can be considered as environmental indicators. In that context, this study aimed at investigating the fine-scale foraging habitat of two semi-aquatic mammals, the Pyrenean desman *Galemys pyrenaicus* and the Eurasian water shrew *Neomys fodiens* using biological and ecological traits profiles of aquatic invertebrate prey communities found in their faeces. Despite an apparent generalist feeding diet and a high overlap of prey trait profiles between both mammals, they exhibited a selective feeding strategy towards some specific traits of their aquatic prey. Although both species mainly consumed prey types accordingly to their relative density in streams, *G. pyrenaicus* tended to select rather pollution-sensitive prey typical of fast flowing areas with coarse mineral substrate whereas *N. fodiens* selected invertebrates present in organic detritus accumulation areas where flow velocity was low. The highlighted differences between prey traits profiles consumed by both species reflect a contrasted microhabitat use in streams and seem to insure a successful partitioning of trophic resources. This study emphasizes the usefulness of combining data on predators diet, prey availability and prey traits profiles to understand species distribution at fine scale with the identification of foraging habitats that can be targeted by conservation actions, and co-occurrence patterns of predators.

Keywords

diet analysis, functional traits, molecular analysis, semi-aquatic mammal, spatial segregation

Introduction

As species traits are assumed to be filtered by environmental conditions, they can be used to explain the local distribution of organisms and are commonly referred as environmental indicators (Usseglio-Polatera *et al.* 2000). Trait-based approaches are thus widely used in biomonitoring context to assess the effects of environmental stressors on communities in studies from the organism to the ecosystem level in terrestrial (e.g. Violle *et al.* 2007) or aquatic (e.g. Mondy *et al.*, 2012) environments.

In addition, traits-based approaches may be useful in enhancing the knowledge about the biology and ecology of predators through the study of their prey. Indeed, by giving a picture of the functional profile of prey communities, biological and ecological traits may highlight the microhabitats where prey are mainly found (i.e. affinities with particular habitat traits) and thus, the potential fine-scale habitat where predators may forage them. This is of particular interest when studying rare or elusive species for which direct observations are difficult to achieve (Rushton, Ormerod and Kerby 2004) and whose presence is commonly estimated from indirect signs such as faeces, hairs or tracks. However, the detection of such signs at a site does not necessarily imply that the site is used for resources (e.g. food or shelter) as it may only be a passing area or a territorial marking site. Therefore, inferences about habitat selection at a fine scale based on the sole detection of indirect signs may be biased and would benefit from prey traits consideration.

Biological and ecological characteristics of prey have already been used to investigate prey types of predator species and patterns of diet selection, but also competition for foraging habitats and mechanisms of food partitioning (Clare *et al.* 2011, 2014 ; Sánchez-Hernández *et al.* 2011 ; Sánchez-Hernández, Gabler and Amundsen 2016 ; Sánchez-Hernández 2014 ; Green and Côté 2014 ; Rodríguez-Lozano *et al.* 2016). Most studies were however limited to fish. As far as we know, the only predator mammals studied with this type of approaches were bats (Clare *et al.* 2011, 2014) but these two studies used a species-level approach (i.e. species-level identification of prey and sole consideration of specific affinities for organic pollution and acidification tolerance, lotic or lentic habitat). The taxonomic composition of diets is assemblages-specific and may vary across time and scales unlike the combination of traits inside a community (Feio *et al.* 2010). The previously cited fish studies closed this gap by considering biological and ecological traits of prey. However, most of them were first limited to the description of prey types and potential foraging habitats of predators based solely on invasive and incomplete traditional dietary analyses (i.e. identification of prey remains in stomach). Such methods imply the capture of animals for gut extraction which may be difficult to implement on the field and may raise ethical issues for endangered species. Also, visual identification

of prey remains requires a strong expertise in the taxonomy of prey and is known to underestimate the number of prey due to degraded remains that cannot be identified with precision (Pompanon *et al.* 2012). Second, previous studies that used traits-based-approaches to investigate the diet of predators frequently lacked a systematic comparison with prey present in the environment. Yet, without an estimate of the abundance and accessibility of prey, it is not possible to assess accurately the potential selectivity of a predator for a particular resource and whether a prey is over- or under-represented in its diet relative to the amount available. For instance, a highly frequent prey in diet may imply either a generalist predator if the prey is very frequent in the foraging habitat or a highly specialist predator if the prey is rare.

To overcome these shortcomings, traits-based approaches could benefit from the recent advances in molecular techniques that make now possible to identify prey from DNA fragments contained in faeces (Valentini *et al.* 2009). These methods have been used for instance to document on diet composition and richness for a large variety of diet types (e.g. carnivore: Shehzad *et al.* 2012), to survey biodiversity in remote or inaccessible areas where the predators forage (Boyer, Cruickshank and Wratten 2015) or to analyze dietary overlap for species that share the same spatial niches (Brown *et al.* 2014). These non-invasive molecular dietary analyses could be coupled to a complete assessment of both available and consumed prey communities described using biological and ecological traits. This would improve the understanding of trophic ecology of predators, especially the species difficult to observe or sample. To our knowledge, these three methods have never been used in combination to investigate the potential foraging habitat preferences of predators.

In this study, this three-fold approach was applied to the foraging habitat of the endangered Pyrenean desman *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811, Talpidae) listed as vulnerable by the IUCN (Fernandes *et al.* 2008). This species is a small semi-aquatic mammal endemic to the Pyrenees Mountains (France, Spain and Andorra) and the Iberian Peninsula (northern and central Spain, northern Portugal). As a small, cryptic and secretive mammal, *G. pyrenaicus* has long suffered from a lack of knowledge on its biology and ecology. Benefiting from recent local, national and European initiatives (e.g. in France: Némot *et al.* 2011 ; LIFE+ Desman 2013) and the recent development of genetic methods (Gillet 2015 ; Gillet *et al.* 2015a,b), knowledge on habitat requirements (e.g. Charbonnel *et al.* 2015 ; Biffi *et al.* 2016) and trophic ecology (Gillet 2015 ; Biffi *et al.* 2017) have been improved. However, these studies remained limited by the spatial scale considered (i.e. the river reach) which did not allow to identify microhabitats used for foraging. Besides, studies on biotic interactions remain to be supplemented. Several studies have assumed that the semi-aquatic Eurasian water shrew *Neomys fodiens* (Pennant, 1771, Soricidae) could be a potential competitor of *G. pyrenaicus* for trophic and habitat resources as they occupy the same kind

of habitats (e.g. Castién and Gosálbez 1999). Having similar affinities towards swiftly-flowing streams (e.g. Greenwood, Churchfield and Hickey 2002 ; Biffi *et al.* 2016), similar feeding strategies (e.g. Churchfield 1985 ; Castién and Gosálbez 1999) and a significant overlap in aquatic invertebrates prey (Santamarina 1993 ; Castién and Gosálbez 1999), the mechanisms allowing their co-occurrence in streams remain to be further explored.

In that context, the objectives of this study were (i) to refine the foraging habitats in streams of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* at fine-scale using the biological and ecological traits of their aquatic prey communities, and (ii) to investigate a spatial overlap of their foraging aquatic habitats.

Materials and methods

Sampling sites

Sampling was conducted in 31 stream reaches spread over the upstream part of the Ariège catchment in the central French Pyrenees Mountains (Figure 1). The Ariège River is the main tributary of the Garonne River in its mountainous part. This area was selected for the known high occurrence of *Galemys pyrenaicus* (Charbonnel *et al.* 2015, 2016 ; Biffi *et al.* 2016) as well as the report of *Neomys fodiens* presence (Charbonnel *et al.* 2015). The study area is a mid-mountain zone where human activities are limited. The 31 stream reaches were located close from their spring (mean: 8.7 ± 5.2 km). The elevation varies between 410.8 m and 1158.4 m (mean: 748.03 ± 223.33 m) and mean monthly stream flow equals to 0.7 ± 0.9 m³/s with a maximum of 3.7 m³/s (Charbonnel *et al.* 2016). The land cover surrounding the 31 stream reaches were dominated by natural zones with herbaceous or shrubby vegetation (49.9 ± 35.0 %), agricultural lands (49.0 ± 34.4 %) and forests (41.4 ± 30.9 % ; Corine Land Cover © DB 2012). Consistent with a mountainous area, the climate was quite cold (mean annual air temperature = 10.5 ± 1.1 °C, SAFRAN © DB) and wet (mean annual rainfall = 1161.7 ± 118.9 mm, SAFRAN © DB).

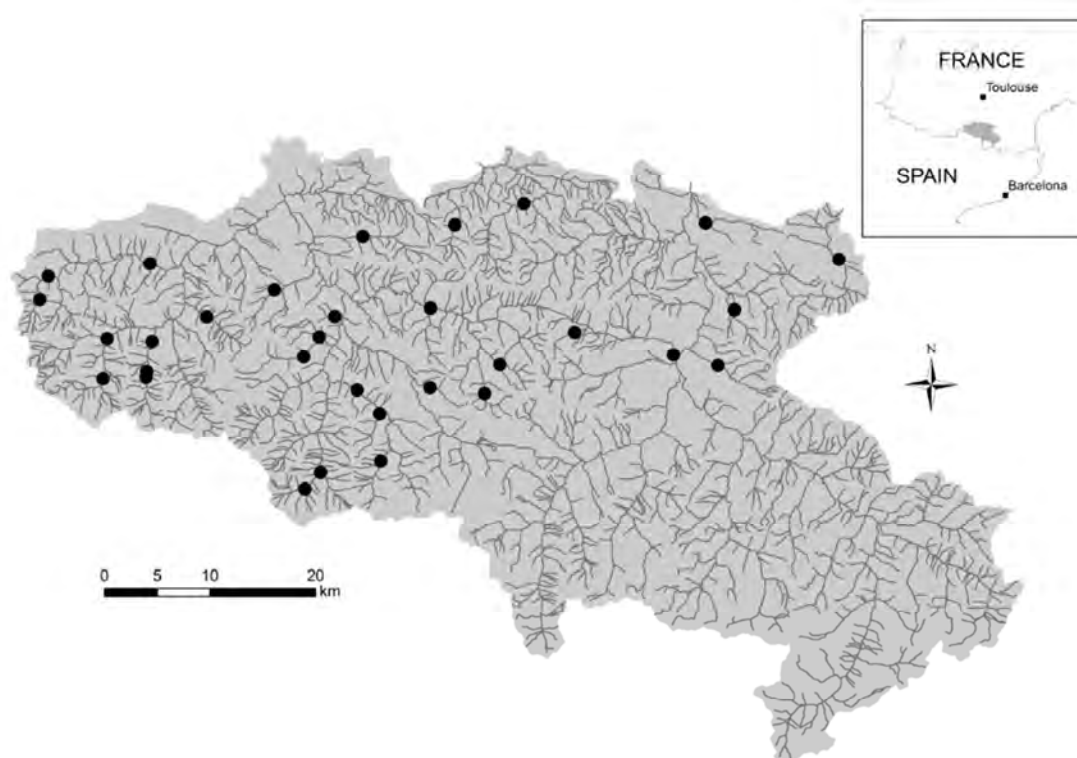


Figure 1: Location of the study area and sampling sites (black dots) in the upstream part of the Ariège catchment in the central French Pyrenees Mountains.

Faeces sampling and molecular genetics analyses

Searches for faeces of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* were conducted between June and September 2015 in each of the 31 stream reaches. Skilled observers meticulously inspected each emergent item (i.e. rock, tree root or branch) along 250 m riverbed transects where all faeces suspected of being left by *G. pyrenaicus* or *N. fodiens*, based on colour, size, smell and position, were collected.

Molecular genetic tools were used both to confirm the identity of the predator producing the faeces and the prey they contained. DNA was extracted from each sampled faeces and a portion of the mitochondrial cytochrome oxydase I gene (COI) was amplified by PCR following next-generation sequencing methods (see Gillet *et al.* 2015b for details). The amplified sequences were compared with published sequences available in the online BOLD database (Ratnasingham and Hebert 2007). Sequences that had a unique best-hit were considered to be positive matches with an identity score (i) above or equal to 80 % for the identification of prey taxa at the genus level (when possible) and (ii) above or equal to 99 % for the identification of the predator at the species level. Family-level was finally retained for prey identification in order to match the taxonomic-level of aquatic invertebrates' identification from stream samples (see below). For each predator, the frequency of occurrence of the consumed invertebrate prey (FO_{diet}) was calculated for each site as the number of faeces containing the invertebrate family divided by the total number of faeces collected in the site.

Aquatic invertebrates sampling

Along with the faeces sampling, aquatic invertebrate communities were sampled in the 31 stream reaches following a stratified protocol in order to estimate the amount of aquatic invertebrates prey available in the stream reaches. Six Surber net samples (mesh size: 500 μm , sampled area: 0.04 m^2) were conducted in the dominant habitats covering more than 5% of each stream reach (e.g. mainly coarse mineral substrate in high-flow facies) to be representative of river stretches. All samples were transferred to the laboratory where they were sieved and sorted. Aquatic invertebrates were then identified following Tachet *et al.* (2000) at the family level (except for *Oligochaeta* and *Hydracaria*) to avoid misidentification of early stages invertebrates. The number of individuals per taxon was then counted. Taxa with less than three individuals caught during the whole sampling (i.e. 31 stream reaches) were not included in the analysis following Colas *et al.* (2013). The relative density of each invertebrate family ($\text{RD}_{\text{stream}}$) was lastly calculated for each stream reach as the total number of individuals for this family divided by the total number of invertebrates collected in the stream reach.

Biological and ecological traits data

Traits profiles of aquatic invertebrates prey taxa were assessed using fuzzy-coded biological and ecological traits (Chevenet, Dolédec and Chessel 1994) described for each taxon by Usseglio-Polatera *et al.* (2000) according to information on taxa reviewed from the literature. In this study, eight traits were selected as relevant descriptors of prey and foraging habitats of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* (Table 1). The biological traits selected reflect the morphology of invertebrates (maximal size), life history (aquatic stages) and behavioural features (feeding habits, locomotion and substrate relation). The selected ecological traits describe habitat preferences of taxa at microhabitat scale (bottom substrate, current velocity, trophic level of freshwater, saprobity). Each trait was described by a set of modalities (Table 1). A total of 40 modalities was used in the analyses detailed below.

For each site, each dataset of aquatic invertebrates ($\text{RD}_{\text{stream}}$ vs. FO_{diet}) was combined to traits modalities frequencies to provide a mean weighted trait profile of each assemblage of aquatic invertebrates present in the stream and each assemblage of prey consumed, respectively. More precisely, the individual trait profile of each family (i.e. theoretical frequency of each ecological trait modality) was weighted by its frequency of occurrence or relative density in the sample (Chevenet *et al.* 1994 ; Usseglio-Polatera *et al.* 2000) that was either the diet of the two mammals (FO_{diet}) or the amount of taxa available in streams ($\text{RD}_{\text{stream}}$). Then, the sum of the weighted modalities was rescaled to sum to one for each trait and for each site. The mean weighted trait profile of each assemblage

corresponded to the mean scores of taxa of an assemblage for each modality and trait in each site (Usseglio-Polatera *et al.* 2000).

Mean trait profiles of the available invertebrate communities in the streams were calculated for all the 31 stream reaches (hereafter “streams” profiles). Mean traits profiles of the aquatic prey found in the faeces of *G. pyrenaicus* (“*Galemys*” profiles) were calculated for 27 stream reaches where the species was confirmed to be present. Similarly, mean traits profiles of the aquatic prey found in the faeces of *N. fodiens* (“*Neomys*” profiles) were calculated for 17 stream reaches where the species was confirmed to be present. Both mammal species were found to co-occur in 13 sites.

Table 1: Description of the eight biological and ecological traits used to study prey types and foraging habitats of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*.

Types of traits		Traits	Modalities	Code
Biological	Morphology	Maximal size	≤ 0.5 cm	<0.5
			> 0.5 - 1 cm	0.5-1
			> 1 - 2 cm	1-2
			> 2 - 4 cm	2-4
			> 4 cm	>4
	Life history	Aquatic stages	egg	egg
			larva	larv
			nymph	nym
			adult	adult
	Behaviour	Locomotion and substrate relation	flier	fly
			surface and full-water swimmer	swim
			crawler	craw
			burrower (epibenthic)	bur
			interstitial (endobenthic)	int
			temporarily or permanently attached	att
		Feeding habits	absorber	abs
			deposit feeder	dep
			shredder	shred
			scraper	scrap
			filter feeder	filt
			predator	pred
			parasite and piercer (plants or animals)	para
Ecological	Habitat preference at fine scale	Substrate preferendum	silt/mud	simud
			sand/gravel	sdgrv
			flags/boulders/cobbles/pebbles	cobb
			macrophytes	macro
			microphytes	micro
			twigs/roots	root
			organic detritus/litter	litt
		Current velocity preferendum	null	null
			slow (< 25cm/s)	slow
			medium (25-50 cm/s)	med
			fast (> 25cm/s)	fast
		Trophic level of freshwater	oligotrophic	oligot
			mesotrophic	mesot
			eutrophic	eut
		Saprobity	xenosaprobic	xenos
			oligosaprobic	oligos
			β-mesosaprobic	βmesos
			α-mesosaprobic and polysaprobic	ampols

Statistical analyses

To compare the overall traits profile of aquatic prey in the diet of both mammals to the one of aquatic invertebrates present in the streams, a Fuzzy Correspondence Analysis (FCA ; Chevenet *et al.*, 1994) ordinating the trait “streams” profiles of the 31 stream reaches (i.e. prey available) was used. FCA is a multivariate method for the analysis of traits data that enables to provide a joint ordination of sites and traits modalities. Then, the 27 “*Galemys*” traits profiles (i.e. prey consumed by *G. pyrenaicus*) and the 17 “*Neomys*” traits profiles (i.e. prey consumed by *N. fodiens*) were projected on the first factorial plane of the FCA. The coordinates on the first two axes of the “*Galemys*” profiles and the “*Neomys*” profiles were each compared to the “streams” profiles using Wilcoxon-Mann-Whitney tests with Bonferroni correction. The homogeneity of variance along the first two axes was also assessed using a Fisher test to compare the width of the different traits profiles between “streams” and mammals’ profiles.

To go further and assess a potential selectivity of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* for some types of prey and foraging habitats, the frequency of occurrence of each trait modality was compared using a Wilcoxon signed-rank test with Bonferroni correction (according to Bêche, McElravy and Resh 2006) between “streams” and “*Galemys*” or “*Neomys*” profiles.

To determine the degree of overlap between prey traits profiles of both mammals, the Pianka’s niche overlap index (Pianka 1974) was first calculated on modalities for each trait and each site separately, and then averaged over all traits and all sites. Only 13 sites where both mammals co-occurred were kept for this analysis to avoid a bias induced by a potential variation in available aquatic invertebrates in streams. The Pianka index ranges from 0 (no resource used in common) to 1 (complete overlap in the resource used).

The trophic niche breadth based on biological and ecological traits of aquatic invertebrates was assessed in the 13 sites where both mammals co-occurred for “streams” profiles. The standardized index of Levins (B_A ; Hurlbert 1978) was computed according to the formula : $B_A = \frac{B-1}{n-1}$; where B is the food niche breadth defined by Levins (1968) as $B = 1 / (\sum_{i=1}^n p_i^2)$ with p_i being the frequency of the modality i in the considered traits profiles in each station and n is the total number of modalities for the trait considered. This index ranges from 0 (narrow trophic niche) to 1 (wide trophic niche). To investigate a potential influence of available trophic resources on the trophic overlap between *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* in sites where they co-occurred, the relationship between the Pianka index of overlap between mammal species and the traits niche breadth of “streams” profiles was assessed using one-tailed Spearman correlation coefficient. It was hypothesized that the trophic overlap

between both species would increase when the traits niche breadth of stream invertebrates become narrower.

Lastly, to highlight finer potential differences between mammals at the trait modality level, the traits profile of the prey of *G. pyrenaicus* was compared to the one of *N. fodiens* in the 13 sites where both mammals co-occurred. Wilcoxon signed-rank tests were used to compare each trait modality with Bonferroni correction (Bêche *et al.* 2006).

All statistical analyses were conducted in R 3.3.2 (R Core Team, 2014) using the *ade4* and *spaa* packages.

Results

Diversity of invertebrates in the streams and in the diet of Galemys pyrenaicus and Neomys fodiens

A total of 247 faeces were collected in the 31 sampling sites and analysed through molecular tools. Among them, 112 faeces were assigned to *G. pyrenaicus* but only 107 faeces also contained prey identification (4.0 ± 1.7 faeces per site). Thirty-nine faeces were assigned to *N. fodiens* (2.3 ± 1.4 per site) and 30 faeces belonged to 15 other host species (mammals such as *Neomys anomalus*, *Apodemus sp.*, *Sorex sp.* ; bats or birds). Molecular identification of predators and prey failed for the remaining 66 faeces sampled due to insufficient DNA quantity or degraded samples.

In total, 158 invertebrate families were identified as prey species for the two mammals. Each mammal consumed 106 different invertebrate families but only 54 families were common to both species diets. Despite a much higher number of terrestrial than aquatic prey in both mammals' diets, terrestrial taxa represented only 21.96 ± 27.98 % of the consumed prey per faeces in *G. pyrenaicus* diet but 77.09 ± 20.08 % in *N. fodiens* diet. The most frequent aquatic families were Heptageniidae and Chironomidae in *G. pyrenaicus* and in *N. fodiens* diets, respectively (Appendix 1).

From the aquatic invertebrates collected in streams, a total of 58 different invertebrate families were identified. They were typical of the known freshwater invertebrate fauna of the French Pyrenees (e.g. Brown, Milner and Hannah 2006 ; Céréghino, Giraudel and Compin 2001 ; Finn, Khamis and Milner 2013). The invertebrate families that occurred the most were Baetidae, Chironomidae and Elmidae (Appendix 1). Among them, 50 aquatic invertebrate families were found with more than three individuals in the whole study area and were thus kept for trait profiles analyses regardless of their frequency of occurrence in the mammals' diets. Among these 50 aquatic families, 14 were

present in the streams but consumed by neither of the two mammals, 12 consumed only by *G. pyrenaicus*, two consumed only by *N. fodiens* and 22 consumed by both mammals

Overall structure of invertebrates trait profiles in streams and trophic preferences of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*

The first two axes of the FCA conducted on the 31 “streams” trait profiles accounted for 50.76 and 18.15% of the overall variation within the eight traits of the available invertebrate fauna. “Streams” traits profiles were dispersed all along the second axis of the FCA but at overall negative values on the first axis (Figure 2a). One “streams” profile was located far away from the others on the first axis due to the dominance of the traits of the Gammaridae family that represented almost 89% of the invertebrate fauna in this site while the mean proportion of Gammaridae in the other 30 sites was lower than 2%. “*Galemys*” and “*Neomys*” traits profiles were grouped together around the origin of the factorial plane (Figure 2a) that represents the mean prey types present in streams regarding the eight traits accounted. This pattern suggests that the trait modalities of the invertebrates consumed the most by both mammals corresponded to the most frequent traits modalities in the stream invertebrate communities. The invertebrate communities consumed the most by the two mammals and present in higher relative abundance in streams were characterised by a higher frequency of medium-sized organisms (Figure 2b, Table 2) exhibiting affinity for coarse habitats (Figure 2f, Table 2) with slow, medium and fast water velocity (Figure 2g, Table 2). Such invertebrates were crawlers (Figure 2d, Table 2), scrapers and shredders (Figure 2e, Table 2) and were relatively sensitive to organic pollution (Figure 2i, Table 2). Consistently with this preference towards prey types occurring the most in the streams, the position of trait profiles was not significantly different between “streams” and “*Galemys*” profiles (Mann-Whitney-Wilcoxon: $p > 0.5$ for the two axes) but slightly different for “*Neomys*” profiles on the first axis of the FCA ($W = 154$, $p = 0.02$). This result thus suggests a higher selection of *N. fodiens* for particular invertebrate traits profiles compared to the overall traits profiles of available prey in the streams than *G. pyrenaicus*.

Although the overall prey trait profiles of both mammals did not differ strongly from the “streams” profiles, the width of “*Galemys*” and “*Neomys*” trait profiles was significantly narrower than “streams” profiles on the first factorial plane (Fisher: $p < 0.01$ for both axes and both species). Prey trait profiles of both mammals thus varied very little among the different sampled stream reaches compared to prey trait profiles of invertebrates present in the whole study area. These results suggest that the entire traits trophic niche was not fully used by *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*.

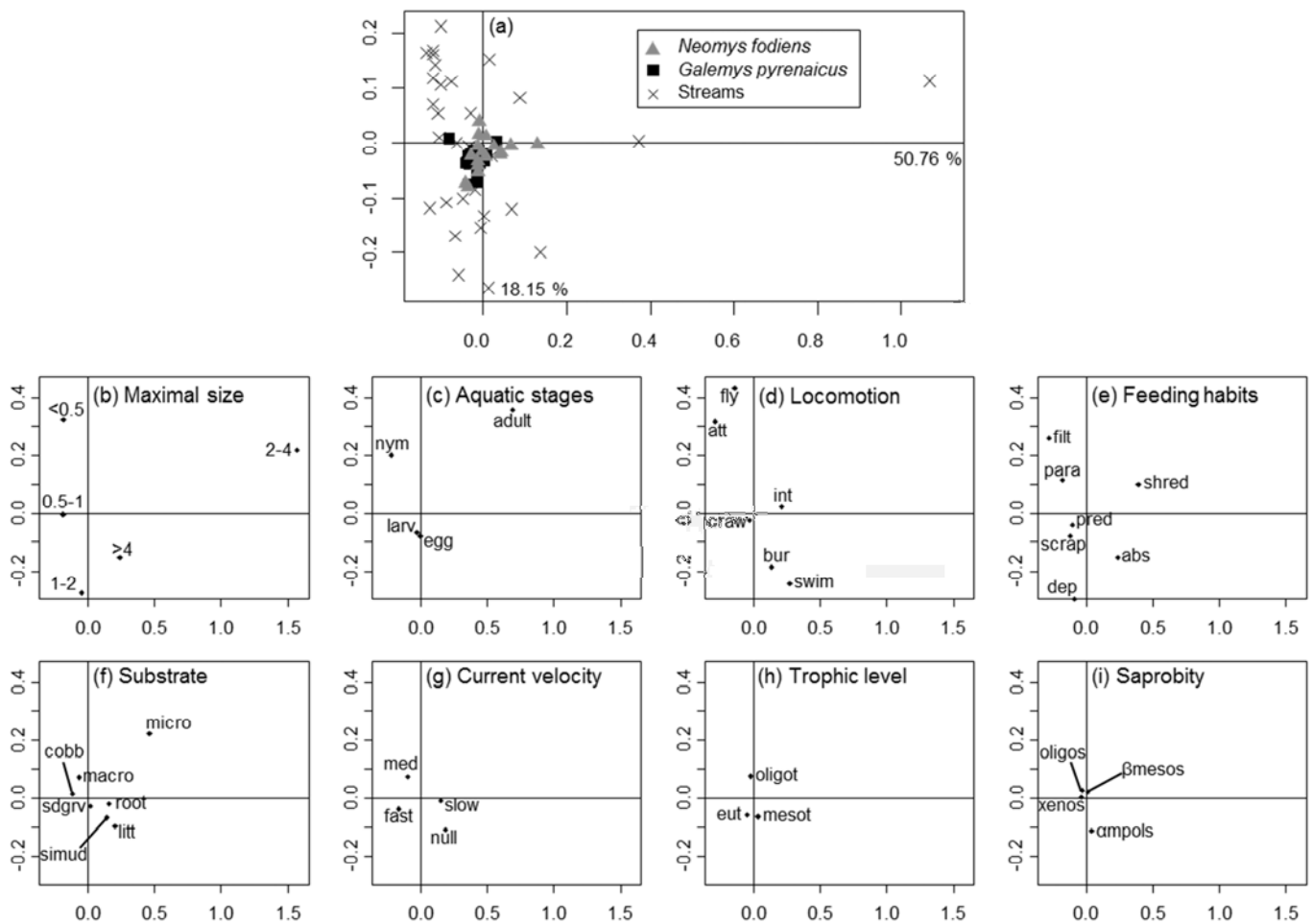


Figure 2: Fuzzy correspondence analysis (FCA) performed on the 31 sites of the « stream » traits profiles (FOstream x trait dataset). Graphics (a) to (j) show the ordination of modalities for the eight biological and ecological traits (see Table 1 for details) on the first factorial plane. The central plot (k) displays the 31 stream traits profiles (crosses) and the projection on the first factorial plane of the 27 prey traits profiles where *G. pyrenaicus* was detected (black squares) and the 17 prey traits profiles where *N. fodiens* was detected (grey triangles).

In accordance with the outputs of the FCA, the most frequent prey of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* tended to correspond to the most available invertebrates in the streams where mammal species were detected (see above and Table 2). Yet, some differences between “streams” profiles and mammals prey profiles were identified among the most frequently consumed prey (Table 2). For instance, *G. pyrenaicus* tended to prefer aquatic invertebrates at larva stage whose maximal potential size is between 2-4 cm. It also preferred predators compared to scrapers, as well as prey with no tolerance to organic pollution. Despite an overall high consumption of frequent prey types in streams, *N. fodiens* also exhibited preferences for less frequent trait modalities such as invertebrates with affinities for streams with null current velocity living in litter or fine sediment (i.e. silt and mud) substrate.

Table 2: Mean frequency of each trait modality in the “Galemys”, “Neomys” and “streams” profiles (standard deviations between brackets). Values in bold for one profile (i.e. mammal or stream) are significantly higher than those for the corresponding profile (i.e. stream or mammal) according to Wilcoxon signed-rank tests after Bonferroni correction.

Modalities	Frequency of modality (%)			
	<i>Galemys</i> profile	Streams profile where <i>G. pyrenaicus</i> was detected	<i>Neomys</i> profile	Streams profile where <i>N. fodiens</i> was detected
< 0.5	0.07 (0.06)	0.21 (0.10)	0.12 (0.20)	0.17 (0.08)
0.5 - 1	0.43 (0.12)	0.44 (0.08)	0.36 (0.22)	0.42 (0.13)
.1 - 2	0.32 (0.09)	0.29 (0.10)	0.26 (0.13)	0.31 (0.11)
.2 - 4	0.18 (0.12)	0.06 (0.05)	0.23 (0.22)	0.11 (0.17)
> 4	0.01 (0.03)	0 (0)	0.02 (0.04)	0 (0.01)
egg	0.37 (0.07)	0.36 (0.05)	0.35 (0.08)	0.37 (0.05)
larv	0.43 (0.03)	0.41 (0.03)	0.42 (0.06)	0.41 (0.03)
nym	0.18 (0.08)	0.17 (0.06)	0.15 (0.09)	0.15 (0.08)
adult	0.02 (0.03)	0.06 (0.03)	0.07 (0.10)	0.07 (0.07)
fly	0 (0)	0.02 (0.02)	0 (0.01)	0.02 (0.01)
swim	0.15 (0.07)	0.15 (0.06)	0.17 (0.11)	0.17 (0.07)
craw	0.60 (0.09)	0.55 (0.05)	0.59 (0.15)	0.54 (0.06)
bur	0.09 (0.07)	0.05 (0.03)	0.12 (0.12)	0.06 (0.04)
int	0.04 (0.03)	0.06 (0.02)	0.06 (0.03)	0.07 (0.02)
att	0.12 (0.06)	0.16 (0.07)	0.05 (0.05)	0.15 (0.09)
abs	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
dep	0.13 (0.06)	0.11 (0.04)	0.12 (0.07)	0.11 (0.04)
shred	0.28 (0.09)	0.25 (0.07)	0.45 (0.24)	0.27 (0.15)
scrap	0.29 (0.09)	0.37 (0.07)	0.21 (0.17)	0.35 (0.09)
filt	0.13 (0.07)	0.15 (0.07)	0.06 (0.07)	0.16 (0.09)
pred	0.16 (0.09)	0.09 (0.04)	0.12 (0.08)	0.09 (0.04)
para	0.01 (0.02)	0.03 (0.01)	0.04 (0.12)	0.02 (0.01)
simud	0.09 (0.04)	0.07 (0.02)	0.10 (0.04)	0.07 (0.02)
sdgrv	0.22 (0.03)	0.22 (0.04)	0.20 (0.07)	0.22 (0.03)
cobb	0.32 (0.07)	0.34 (0.06)	0.24 (0.06)	0.33 (0.07)
macro	0.19 (0.03)	0.21 (0.03)	0.22 (0.08)	0.20 (0.04)
micro	0.01 (0.02)	0.01 (0.01)	0.02 (0.02)	0.02 (0.01)
root	0.09 (0.02)	0.08 (0.01)	0.10 (0.03)	0.09 (0.02)
litt	0.08 (0.02)	0.07 (0.02)	0.12 (0.04)	0.08 (0.02)
null	0.13 (0.11)	0.10 (0.03)	0.17 (0.07)	0.11 (0.04)
slow	0.27 (0.05)	0.30 (0.04)	0.33 (0.07)	0.31 (0.07)
med	0.34 (0.05)	0.35 (0.04)	0.32 (0.07)	0.34 (0.04)
fast	0.26 (0.08)	0.24 (0.05)	0.18 (0.07)	0.24 (0.07)
oligot	0.46 (0.07)	0.46 (0.07)	0.48 (0.14)	0.44 (0.04)
mesot	0.38 (0.04)	0.39 (0.05)	0.36 (0.08)	0.40 (0.03)
eut	0.16 (0.05)	0.15 (0.03)	0.16 (0.08)	0.15 (0.03)
xenos	0.15 (0.04)	0.13 (0.03)	0.15 (0.09)	0.13 (0.02)
oligos	0.35 (0.04)	0.35 (0.03)	0.35 (0.11)	0.33 (0.03)
βmesos	0.34 (0.04)	0.39 (0.03)	0.32 (0.12)	0.39 (0.03)
ampols	0.16 (0.06)	0.14 (0.03)	0.12 (0.07)	0.15 (0.03)

Comparison of prey trait profiles between *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*

When based on the eight biological and ecological traits of prey communities present in the 13 stream reaches where both mammals co-occurred, the Pianka index indicated an extensive overlap (0.98 ± 0.02) that concerned all traits (mean Pianka index per trait = 0.91 ± 0.06 ; range: 0.80 – 0.96).

There was no significant negative correlation between the trait niche breadth of streams invertebrate communities and the Pianka index of overlap between mammals ($p > 0.05$) suggesting that the overlap between the two mammals' diets was not higher when the traits niche breadth of streams invertebrate communities was narrower.

Lastly, despite an important overall overlap of traits profiles of consumed prey, Wilcoxon signed-rank tests revealed significant differences for a few trait modalities between the two mammals prey communities in the 13 sites where they co-occurred (Figure 3). These trait modalities described the habitat preferences of invertebrates and in particular substrate types and current velocity affinities. Indeed, the prey of *G. pyrenaicus* included a higher proportion of invertebrates present in coarse grain substrate (i.e. cobbles/pebbles) and in fast current velocity than prey of *N. fodiens*.

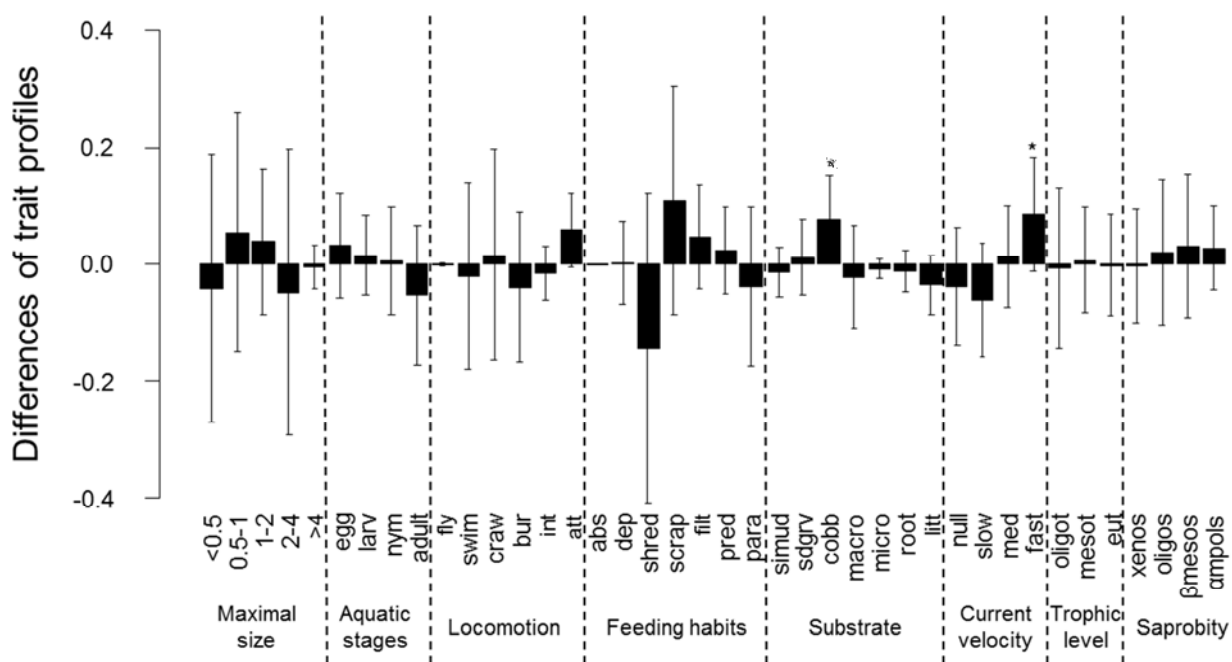


Figure 3: Mean and standard deviation of differences between the mean traits profiles calculated from the diet of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* in the 13 sites where the two species co-occur. Positive values indicate a higher affinity for the modality in *G. pyrenaicus* diet than in *N. fodiens* diet. Asterisks highlight significant differences between the two mammals' traits profiles (Wilcoxon signed-rank test after Bonferroni correction).

Discussion

The strengths of combining trait-based approaches, molecular analyses and available trophic resources for studying the selection of foraging habitat

Habitat selection by animals has often been explored using coarse presence-absence data based on direct observations or the sampling of indirect signs of presence. The place of observation or where signs are found is however often difficult to relate to a specific habitat use (e.g. foraging, resting, breeding) whereas each type of habitat would likely require different conservation actions. Methods such as radio-telemetry have been proven useful to refine habitat selection but they tend to be invasive, time-consuming and inaccurate at fine spatial scale for species that have small home-range like the two mammal species studied here. Our findings confirm that prey trait-based approaches can provide an effective alternative to describe prey selection (Sánchez-Hernández *et al.* 2011 ; Worischka *et al.* 2015 ; Rodríguez-Lozano *et al.* 2016) and emphasize their usefulness to explore the potential foraging habitats of semi-aquatic mammals. In addition, trait-based approaches may benefit from recent molecular tools which have increased the amount of taxa identified in predator diets (Pompanon *et al.* 2012), and thus highlight foraging habitats occupied by taxa not identified by traditional dietary analyses (e.g. soft-bodied prey). In turn, traits-based approaches avoid the pitfall of molecular analyses that tend to overestimate the importance of rare prey contained in the faeces (Clare *et al.* 2014 ; Krüger *et al.* 2014) because of functional redundancy within prey communities (Rosenfeld 2002).

Combining both data on the availability of a resource and its utilization by a species enables to make inferences about the resource preferences for a species. For instance, Worischka *et al.* (2015) related the prey preferences of two freshwater fish species to their foraging mode and their ability to detect prey using traits of their prey. Green and Côté (2014) suggested that coupling data on prey traits that confer vulnerability to predation and data on traits of prey assemblages available in the environment could help establishing spatial priorities for the management of potential prey populations at risk in a context of species invasion. Thus, going beyond a simple description of ecological types of habitats in which prey can be found, the use of biological and ecological traits of potential prey in the environment allows addressing the preference of a predator for specific types of prey defined by their affinity with particular microhabitats.

Hence, the three-fold approach proposed in this study appears an appealing and effective tool to better explore the potential foraging habitats of any other predator species as long as biological and ecological traits of their prey are known and genetic markers have been developed.

The diet of Galemys pyrenaicus and Neomys fodiens: a comparison of taxa-based and trait-based approaches

In spite of the relatively small spatial extent of the study area, more than one hundred different invertebrate prey families were identified in *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* diet. These prey included both terrestrial and aquatic taxa highlighting a highly diverse diet that suggests a relatively generalist feeding strategy regarding the taxonomic composition of prey communities. To date, *G. pyrenaicus* was known as a specialist species targeting benthic aquatic invertebrates (e.g. Santamarina 1993 ; Bertrand 1994 ; Castién and Gosálbez 1995) but these previous diet analyses relied on traditional prey identification methods. A more generalist feeding strategy has been suggested for *N. fodiens* (e.g. Churchfield 1985 ; Castién and Gosálbez 1999).

With traits-based approaches, the identity of prey becomes secondary to focus rather on biological and ecological features of prey that may be similar between taxonomically distant taxa. Results showed that prey types consumed the most by both mammals often corresponded to prey types present the most frequently in streams suggesting an overall non-selective feeding strategy for a large portion of the diet of these two predators. The most consumed and available prey in streams were medium-sized crawlers, scrapers and shredders exhibiting affinity for coarse habitats with slow, medium and fast water velocity and relatively sensitive to organic pollution. However, our results also indicated that both the *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* had a trait-based trophic niche that presented some differences from the traits profiles of the aquatic invertebrate communities present in the streams. First, the traits trophic niches of both species were much narrower than the one delimited by invertebrates present in the study area. Second, both mammals exhibited a significant preference for some traits modalities of aquatic invertebrates compared to those found in streams. More specifically, in addition to feed on traits of the aquatic invertebrates occurring the most in streams, *G. pyrenaicus* targeted prey found in relatively low-polluted waters. This result corroborates previous studies reporting that *G. pyrenaicus* seems to prefer rivers with good physicochemical water quality (Santamarina and Guitian 1988 ; Bertrand 1994).

N. fodiens exhibited a preference for invertebrates with affinities for zones of litter accumulation and fine grain substrate in areas with no flow. Lardet (1988) reported that this mammal species focuses its activity at the ecotone of stream banks which is consistent with low flow areas. The use of habitats with higher current velocity stressed in several other studies (e.g. Greenwood *et al.* 2002) is however contradicted here because prey with affinities for fast flowing waters were found in smaller proportion in *N. fodiens* prey communities compared to their relative density in streams.

Compared to *G. pyrenaicus*, the suggested more specialist behaviour of *N. fodiens* in terms of foraging habitats may be explained by its preferences for streams littoral margins which are not the dominant habitat in the mountainous Pyrenean streams that have been sampled in this study. Thus, the higher similarity in traits between the trophic niche of *G. pyrenaicus* and the invertebrates present in streams would suggest that this mammal may occupy a wider spatial space in streams than *N. fodiens*. *Galemys pyrenaicus* could thus be viewed as a relatively generalist feeder within this kind of habitats while being strongly dependent of them due to its narrow spatial distribution at large scale (Némoz *et al.* 2011).

By highlighting an active selection for some particular prey ecological and biological traits, our analysis therefore suggests that both *N. fodiens* and *G. pyrenaicus* may exhibit some specialist foraging behaviour with preferences for prey in particular microhabitats. Admittedly, this selection for trophic resources is slight compared to the overall pattern highlighted that both mammals consume the prey traits the most frequent in the streams. These findings however mitigate the taxa-based view that both mammals appear as generalist feeders in aquatic environments due to the large number of prey consumed and confirm the value of a combined functional and taxonomic approach.

Co-occurrence patterns between *G. pyrenaicus* and *N. fodiens*

The identification of potential foraging habitats through the biological and ecological traits of prey consumed offers interesting perspectives to better understand biotic interactions and predators co-occurrence (e.g. Sánchez-Hernández *et al.* 2016). Coupled with a selectivity analysis of preferred prey, studies of trophic overlap between predators can be improved even more.

The almost complete overlap of prey trait modalities in the diet of both mammals suggests that they select an overall similar spectrum of prey features in spite of the slight differences highlighted in the prey traits preferred (see above). It could be hypothesized that the overlap would increase when the niche breadth of traits trophic resources becomes narrower (i.e. limited functional resources) but our results did not confirm this pattern. This might suggest first that there was a sufficient amount of prey. This is one of the most plausible reasons advanced in allowing the co-occurrence of predators at the local scale and limiting competition (e.g. Sánchez-Hernández *et al.* 2011 ; Krüger *et al.* 2014). Second, the observed differences in prey traits of both mammals did not concern biological features of invertebrates (e.g. size classes or aquatic stages) but rather their ecological characteristics, in particular the microhabitat preferences in streams (i.e. bottom substrate and current velocity). These results suggest a spatial partitioning in the use of aquatic trophic resources with *G. pyrenaicus*

foraging fast flowing water areas and coarse mineral substrate preferentially compared to *N. fodiens*. The preferences of *N. fodiens* for calm waters could be explained by fewer morphological adaptations to aquatic environments (e.g. no palmed feet, Puisségur 1935 ; short duration of dives: 3-24 s, Lardet 1988 ; Mendes-Soares and Rychlik 2009) that would likely result in lower efficiency in the capture of aquatic prey in water with fast current. This spatial difference in the use of foraging habitats may thus be sufficient to insure a successful co-occurrence of both species at a fine scale in streams.

However, it should be reminded that only the aquatic portion of the diet of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* has been explored in this study while the terrestrial invertebrates represent about 22% and 77% of the consumed prey per faeces in *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* diets respectively. Until recently (Gillet 2015), *G. pyrenaicus* was thought as a specialist predator feeding only on aquatic invertebrates (e.g. Santamarina 1993 ; Bertrand 1994 ; Castién and Gosálbez 1995) whereas the large amount of terrestrial prey in *N. fodiens* diet was known (e.g. Churchfield 1985 ; Castién and Gosálbez 1999). With the development of terrestrial invertebrates traits database (Pey *et al.* 2014), the traits description of the terrestrial prey could further improved the investigation of potential foraging habitats and potential overlap between the two semi-aquatic mammals in terrestrial environments along streams and within streams (i.e. prey fallen down into water).

Conclusions

Identifying fine scale foraging habitat of predators through biological and ecological traits of their prey compared to invertebrate resources present in the environment would provide another tool for conservation by (i) targeting more precisely microhabitats where management and conservation actions should be directed to, (ii) identifying plausible causes of population declines if those microhabitats are altered, and (iii) describing co-occurrence patterns between species feeding on similar trophic resources.

Our findings indicate that the simultaneous conservation of *G. pyrenaicus* and *N. fodiens* in the same stream reaches seems possible. To achieve this dual conservation, management actions should favour the presence of heterogeneous substrates that would insure a high diversity of potential prey, waters with good physicochemical quality, heterogeneous flow conditions (e.g. spatial succession of pools and riffles) as well as a sound management of littoral margins especially in the context of stream recalibration.

Despite an active selection for a few particular prey traits, our findings also emphasized that *G. pyrenaicus* mainly consumes its prey relatively to their proportion in streams and that it forages in microhabitats different from those of *N. fodiens*. Interactions with *N. fodiens* therefore do not seem to act as a stressor for *G. pyrenaicus* which has yet experienced a strong contraction of its spatial distribution in its whole range over recent times (Charbonnel *et al.* 2016 in the French Pyrenees). The availability and quality of aquatic food resources in areas where its populations have decreased, the trophic overlap with other potential competitors exploiting the same trophic resources (e.g. the dipper *Cinclus cinclus*) as well as the predation by both native and invasive top-predators (e.g. the Eurasian otter *Lutra lutra* or the American mink *Neovison vison*) in streams should thus be further explored to assess their potential influence on *G. pyrenaicus* and improve the knowledge about these biotic interactions.

Acknowledgements

We are grateful to all people who helped collecting data on the field and in the laboratory: C. Dupuyds, M. Alvarez., C. Lauzeral, F. Julien, V. Lacaze, S. Lamothe, J. Jabiol, J. Michaux, F. Gillet and A. André. We thank G. Grenouillet for his statistical support. We also thank the “Conservatoire d’Espaces Naturels Midi-Pyrénées” (CEN-MP), especially M. Némot and F. Blanc, for their precious advices. This study was funded by EDF (Electricité de France) and the European Union (FEDER) in the context of the LIFE+ Nature programme devoted to the Pyrenean desman (LIFE13NAT/FR/000092).

References

- Bêche LA, Mcelravy EP, Resh VH (2006) Long-term seasonal variation in the biological traits of benthic-macroinvertebrates in two Mediterranean-climate streams in California, U.S.A. *Freshwater Biology*, **51**, 56–75.
- Bertrand A (1994) Répartition géographique et écologie alimentaire du desman des Pyrénées, *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) dans les Pyrénées françaises. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, France.
- Biffi M, Charbonnel A, Buisson L, Blanc F, Némoy M, Laffaille P (2016) Spatial differences across the French Pyrenees in the use of local habitat by the endangered semi-aquatic Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **26**, 761–774.
- Biffi, M., Gillet, F., Laffaille, P., Colas, F., Aulagnier, S., Blanc, F., Galan, M., Tiouchichine, M.-L., Némoy, M., Buisson, L., & Michaux, J.R. (2017) Novel insights into the diet of the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) using next-generation sequencing molecular analyses. *Journal of Mammalogy*, **98**, 1497–1507.
- Boyer S, Cruickshank RH, Wratten SD (2015) Faeces of generalist predators as “biodiversity capsules”: a new tool for biodiversity assessment in remote and inaccessible habitats. *Food Webs*, **3**, 1–6.
- Brown DS, Burger R, Cole N, Vencatasamy D, Clare EL, Montazam A, Symondson WOC (2014) Dietary competition between the alien Asian Musk Shrew (*Suncus murinus*) and a re-introduced population of Telfair’s Skink (*Leiopisma telfairii*). *Molecular Ecology*, **23**, 3695–3705.
- Brown LE, Milner AM, Hannah DM (2006) Stability and persistence of Alpine stream macroinvertebrate communities and the role of physicochemical habitat variables. *Hydrobiologia*, **560**, 159–173.
- Castién E, Gosálbez J (1995) Diet of *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) in the north of the Iberian peninsula. *Netherlands Journal of Zoology*, **45**, 422–430.
- Castién E, Gosálbez J (1999) Habitat and food preferences in a guild of insectivorous mammals in the Western Pyrenees. *Acta Theriologica*, **44**, 1–13.

- Céréghino R, Giraudel JL, & Compin A (2001) Spatial analysis of stream invertebrates distribution in the Adour-Garonne drainage basin (France), using Kohonen self organizing maps. *Ecological Modelling*, **146**, 167–180.
- Charbonnel A, Buisson L, Biffi M, D’Amico F, Besnard A, Aulagnier S, Blanc F, Gillet F, Lacaze V, Michaux JR, Némot M, Pagé C, Sanchez-Perez JM, Sauvage S, Laffaille P (2015) Integrating hydrological features and genetically validated occurrence data in occupancy modelling of an endemic and endangered semi-aquatic mammal, *Galemys pyrenaicus*, in a Pyrenean catchment. *Biological Conservation*, **184**, 182–192.
- Charbonnel A, Laffaille P, Biffi M, Blanc F, Maire A, Némot M, Sanchez-Perez JM, Sauvage S, Buisson L (2016) Can recent global changes explain the dramatic range contraction of an endangered semi-aquatic mammal species in the French Pyrenees? *PLOS ONE*, 11:e0159941.
- Chevenet F, Dolédec S, Chessel D (1994) A fuzzy coding approach for the analysis of long-term ecological data. *Freshwater Biology*, **31**, 295–309.
- Churchfield S (1985) The feeding ecology of the European Water shrew. *Mammal Review*, **15**, 13–21.
- Clare EL, Barber BR, Sweeney BW, Hebert PDN, Fenton MB (2011) Eating local: influences of habitat on the diet of little brown bats (*Myotis lucifugus*). *Molecular Ecology*, **20**, 1772–1780.
- Clare EL, Symondson WOC, Broders H, Fabianek F, Fraser EE, MacKenzie A, Boughen A, Hamilton R, Willis CKR, Martinez-Nuñez F, Menzies AK, Norquay KJO, Brigham M, Poissant J, Rintoul J, Barclay RMR, Reimer JP (2014) The diet of *Myotis lucifugus* across Canada: assessing foraging quality and diet variability. *Molecular Ecology*, **23**, 3618–3632.
- Colas F, Baudoin J-M, Danger M, Usseglio-Polatera P, Wagner P, Devin S (2013) Synergistic impacts of sediment contamination and dam presence on river functioning. *Freshwater Biology*, **58**, 320–336.
- Feio MJ, Alves T, Boavida M, Medeiros A, Graça MAS (2010) Functional indicators of stream health: a river-basin approach. *Freshwater Biology*, **55**, 1050–1065.
- Fernandes M, Herrero J, Aulagnier S, Amori G (2008) *Galemys pyrenaicus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T8826A12934876. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T8826A12934876.en>. Downloaded on 1 June 2014.

- Finn DS, Khamis K, Milner AM (2013) Loss of small glaciers will diminish beta diversity in Pyrenean streams at two levels of biological organization. *Global Ecology and Biogeography*, **22**, 40–51.
- Gillet F (2015) Génétique et biologie de la conservation du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) en France. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse (France)/Université de Liège (Belgique). 228p.
- Gillet F, Cabria MT, Némoy M, Blanc F, Fournier-Chambrillon C, Sourp E, Vial-Novella C, Aulagnier S, Michaux JR (2015a) PCR-RFLP identification of the endangered Pyrenean desman, *Galemys pyrenaicus* (Soricomorpha, Talpidae), based on faecal DNA. *Mammalia*, **184**, 182–192.
- Gillet F, Tiouchichine M-L, Galan M, Blanc F, Némoy M, Aulagnier S, Michaux JR (2015b) A new method to identify the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) and to study its diet, using next generation sequencing from faeces. *Mammalian Biology*, **80**, 505–509.
- Green SJ, Côté IM (2014) Trait-based diet selection: prey behaviour and morphology predict vulnerability to predation in reef fish communities. *Journal of Animal Ecology*, **83**, 1451–1460.
- Greenwood A, Churchfield S, Hickey C (2002) Geographical distribution and habitat occurrence of the Water Shrew (*Neomys fodiens*) in the Weald of South-East England. *Mammal Review*, **32**, 40–50.
- Hurlbert SH (1978) The measurement of niche overlap and some relatives. *Ecology*, **59**, 67–77.
- Krüger F, Clare EL, Symondson WOC, Keišs O, Pētersons G (2014) Diet of the insectivorous bat *Pipistrellus nathusii* during autumn migration and summer residence. *Molecular Ecology*, **23**, 3672–3683.
- Lardet J-P (1988) Spatial behaviour and activity patterns of the water shrew *Neomys fodiens* in the field. *Acta Theriologica*, **33**, 293–303.
- Levins R (1968) *In: Evolution in changing environments: some theoretical explorations*. Princeton Univeristy Press, Princeton, N.J.
- LIFE+ Desman (2013) Technical Application Forms – Conservation of the French populations of *Galemys pyrenaicus* and its populations on the French Pyrénées, (LIFE13 NAT/FR/000092). 274p.

- Mendes-Soares H, Rychlik L (2009) Differences in swimming and diving abilities between two sympatric species of water shrews: *Neomys anomalus* and *Neomys fodiens* (Soricidae). *Journal of Ethology*, **27**, 317–325.
- Mondy CP, Villeneuve B, Archaimbault V, Usseglio-Polatera P (2012) A new macroinvertebrate-based multimetric index (I2M2) to evaluate ecological quality of French wadeable streams fulfilling the WFD demands: a taxonomical and trait approach. *Ecological Indicators*, **18**, 452–467.
- Némoz M, Bertrand A, Sourie M, Arlot P (2011) A French Conservation Action Plan for the Pyrenean Desman *Galemys pyrenaicus*. *Galemys*, **23**, 47–50.
- Pey B, Laporte M-A, Nahmani J, Auclerc A, Capowiez Y, Caro G, Cluzeau D, Cortet J, Decaëns T, Dubs F, Joimel S, Guernion M, Briard C, Grumiaux F, Laporte B, Pasquet A, Pelosi C, Pernin C, Ponge J-F, Salmon S, Santorufo L, Hedde M (2014) A thesaurus for soil invertebrate trait-based approaches. *PLOS ONE*, 9:e108985.
- Pianka ER (1974) Niche overlap and diffuse competition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **71**, 2141–2145.
- Pompanon F, Deagle BE, Symondson WOC, Brown DS, Jarman SN, Taberlet P (2012) Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Molecular Ecology*, **21**, 1931–1950.
- Puisségur C (1935) Recherches sur le desman des Pyrénées. *Bull Soc Hist Nat Toulouse*, **67**, 163–227.
- R Core Team (2014) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Ratnasingham S, Hebert PDN (2007) BOLD: the Barcode Of Life Data system (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes*, **7**, 355–364.
- Rodríguez-Lozano P, Verkaik I, Maceda-Veiga A, Monroy M, de Sostoa A, Rieradevall M, Prat N (2016) A trait-based approach reveals the feeding selectivity of a small endangered Mediterranean fish. *Ecology and Evolution*, **6**, 3299–3310.
- Rosenfeld JS (2002) Functional redundancy in ecology and conservation. *Oikos*, **98**, 156–162.
- Rushton SP, Ormerod SJ, Kerby G (2004) New paradigms for modelling species distributions? *Journal of Applied Ecology*, **41**, 193–200.

- Sánchez-Hernández J (2014) Age-related differences in prey-handling efficiency and feeding habitat utilization of *Squalius carolitertii* (Cyprinidae) according to prey trait analysis. *Biologia*, **69**, 696–704.
- Sánchez-Hernández J, Gabler H-M, Amundsen P-A (2016) Food resource partitioning between stream-dwelling Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.), Atlantic salmon *Salmo salar* L. and alpine bullhead *Cottus poecilopus* Heckel, 1836: an example of water column segregation. *Hydrobiologia*, **783**, 105–115.
- Sánchez-Hernández J, Vieira-Lanero R, Servia MJ, Cobo F (2011) Feeding habits of four sympatric fish species in the Iberian Peninsula: keys to understanding coexistence using prey traits. *Hydrobiologia*, **667**, 119–132.
- Santamarina J (1993) Feeding ecology of a vertebrate assemblage inhabiting a stream of NW Spain (Riobo ; Ulla basin). *Hydrobiologia*, **252**, 175–191.
- Santamarina J, Guitian J (1988) Quelques données sur le régime alimentaire du desman (*Galemys pyrenaicus*) dans le nord-ouest de l’Espagne. *Mammalia*, **52**, 302–307.
- Shehzad W, Riaz T, Nawaz MA, Miquel C, Poillot C, Shah SA, Pompanon F, Coissac E, Taberlet P (2012) Carnivore diet analysis based on next-generation sequencing: application to the leopard cat (*Prionailurus bengalensis*) in Pakistan. *Molecular Ecology*, **21**, 1951–1965.
- Tachet H, Richoux P, Bournaud M, Usseglio-Polatera P (2000) Invertébrés d’eau douce. Systématique, Biologie, Ecologie. CNRS Editions, Paris. 587p.
- Usseglio-Polatera P, Bournaud M, Richoux P, Tachet H (2000) Biomonitoring through biological traits of benthic macroinvertebrates: how to use species trait databases? *Hydrobiologia*, **422**, 153–162.
- Valentini A, Miquel C, Nawaz MA, Bellemain E, Coissac E, Pompanon F, Gielly L, Cruaud C, Nascetti G, Wincker P, Swenson JE, Taberlet P (2009) New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach. *Molecular Ecology Resources*, **9**, 51–60.
- Violle C, Navas M-L, Vile D, Kazakou E, Fortunel C, Hummel I, Garnier E (2007) Let the concept of trait be functional! *Oikos*, **116**, 882–892.

Worischka S, Schmidt SI, Hellmann C, Winkelmann C (2015) Selective predation by benthivorous fish on stream macroinvertebrates – The role of prey traits and prey abundance. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, 52, 41–50.

Appendix 1.— List of taxa identified at the family-level in the Pyrenean desman faeces, in the Eurasian water shrew faeces or in stream samples collected in the study area. For the two mammals diets, the respective frequencies of occurrence (%) of prey taxa are displayed (i.e. proportion of faeces with taxa). For stream samples, the relative densities of stream invertebrates are presented. The 10th most frequent (i.e. diet) or abundant (i.e. streams) taxa are identified in bold.

Classes	Orders	Families	Frequency of occurrence (%)		Relative density (%)
			Pyrenean desman	Eurasian water shrew	Streams
Adenophorea	Mermithida	Mermithidae	-	-	0.01 ± 0.03
Amphibia	Anura	Ranidae	1.23 ± 6.42	-	-
Arachnida	Araneae	Anyphaenidae	1.85 ± 9.62	-	-
		Linyphiidae	0.62 ± 3.21	2.45 ± 7.07	-
		Lycosidae	-	6.37 ± 14.89	-
		Tetragnathidae	-	7.35 ± 24.63	-
		Theridiidae	-	0.98 ± 4.04	-
		Theridiosomatidae	1.23 ± 6.42	-	-
	Mesostigmata	Ascidae	0.74 ± 3.85	-	-
		Laelapidae	0.62 ± 3.21	-	-
		Parasitidae	1.98 ± 7.35	-	-
	Opiliones	Ischyropsalidae	4.63 ± 14.68	5.39 ± 16.91	-
		Nemastomatidae	2.16 ± 7.87	10.29 ± 17.06	-
		Phalangidae	-	1.47 ± 6.06	-
		Sclerosomatidae	-	2.94 ± 12.13	-
	Sarcoptiformes	Ceratozetidae	1.23 ± 6.42	4.90 ± 14.15	-
		Crotoniidae	0.74 ± 3.85	-	-
		Galumnidae	-	0.98 ± 4.04	-
		Liacaridae	-	2.94 ± 12.13	-
		Nanorchestidae	0.62 ± 3.21	-	-
		Oribatulidae	-	2.94 ± 12.13	-
		Trouessartiidae	-	1.47 ± 6.06	-
	Trombidiformes	Ereynetidae	0.74 ± 3.85	-	-
		Eupodidae	-	1.47 ± 6.06	-
		Undetermined Hydracaria	1.27 ± 4.64	5.88 ± 24.25	2.09 ± 1.51
	Undetermined Arachnida		7.90 ± 20.07	4.41 ± 13.21	-
Bivalvia	Veneroida	Sphaeriidae	-	-	0.13 ± 0.56
Chilopoda	Geophilomorpha	Geophilidae	0.53 ± 2.75	14.71 ± 29.39	-
	Lithobiomorpha	Lithobiidae	1.23 ± 6.42	12.75 ± 27.97	-
Clitellata	Arhynchobdellida	Erpobdellidae	0.74 ± 3.85	-	0.03 ± 0.07
	Haplotaxida	Lumbricidae	6.58 ± 12.3	21.08 ± 29.77	-
	Oligochaeta	Undetermined Oligochaeta	-	-	0.54 ± 0.64

Classes	Orders	Families	Frequency of occurrence (%)		Relative density (%)
			Pyrenean desman	Eurasian water shrew	Streams
Collembola	Entomobryomorpha	Isotomidae	0.74 ± 3.85	2.94 ± 12.13	-
		Tomoceridae	-	24.51 ± 38.13	-
	Poduromorpha	Neanuridae	-	4.41 ± 13.21	-
		Onychiuridae	0.93 ± 4.81	-	-
	Symphyleona	Bourletiellidae	-	1.47 ± 6.06	-
Diplopoda	Chordeumatida	Attemsidae	-	1.47 ± 6.06	-
		Craspedosomatidae	0.74 ± 3.85	13.24 ± 28.11	-
		Mastigophorophyllidae	0.53 ± 2.75	0.98 ± 4.04	-
		Opisthocheiridae	-	4.41 ± 10.26	-
	Glomerida	Doderiidae	7.04 ± 17.01	67.16 ± 36.62	-
		Glomeridae	13.00 ± 16.41	82.35 ± 30.88	-
		Glomeridellidae	-	16.18 ± 34.17	-
	Julida	Julidae	6.68 ± 12.73	65.69 ± 42.27	-
	Polydesmida	Polydesmidae	6.02 ± 12.8	51.47 ± 44.12	-
Gastropoda	Hygrophila	Ancylidae	1.85 ± 7.06	-	0.45 ± 0.58
		Lymnaeidae	-	-	0.00 ± 0.01
		Physidae	-	2.94 ± 8.81	-
	Litthorinimorpha	Hydrobiidae	-	-	0.10 ± 0.29
	Stylommatophora	Agriolimacidae	0.53 ± 2.75	-	-
		Arionidae	3.52 ± 8.94	31.86 ± 41.9	-
		Boettgerillidae	-	0.98 ± 4.04	-
		Helicidae	3.70 ± 19.25	10.29 ± 26.6	-
		Limacidae	-	5.39 ± 12.13	-
		Punctidae	0.74 ± 3.85	-	-
Insecta	Archaeognatha	Undetermined Archaeognatha	-	2.94 ± 12.13	-
	Coleoptera	Brentidae	-	1.47 ± 6.06	-
		Buprestidae	0.74 ± 3.85	-	-
		Cantharidae	0.74 ± 3.85	-	-
		Carabidae	0.93 ± 4.81	25 ± 35.36	-
		Curculionidae	0.93 ± 4.81	-	-
		Dryopidae	0.74 ± 3.85	-	0.00 ± 0.02
		Dytiscidae	0.93 ± 4.81	5.88 ± 24.25	0.05 ± 0.13
		Elmidae	0.74 ± 3.85	5.88 ± 24.25	10.19 ± 8.96
		Geotrupidae	-	2.94 ± 12.13	-
		Gyrinidae	-	5.88 ± 24.25	0.09 ± 0.25
		Hydraenidae	-	-	2.54 ± 2.01
		Hydrophilidae	-	-	0.01 ± 0.05
		Scarabaeidae	1.85 ± 9.62	-	-
		Scirtidae	7.17 ± 15.7	14.71 ± 34.3	0.19 ± 0.66
		Silphidae	-	3.92 ± 12.54	-
		Staphylinidae	4.94 ± 12.92	8.82 ± 20.51	-
		Tenebrionidae	0.74 ± 3.85	-	-

Classes	Orders	Families	Frequency of occurrence (%)		Relative density (%)
			Pyrenean desman	Eurasian water shrew	Streams
Insecta	Dermaptera	Forficulidae	-	1.47 ± 6.06	-
	Diptera	Agromyzidae	0.62 ± 3.21	-	-
		Anisopodidae	-	1.47 ± 6.06	-
		Anthomyiidae	6.70 ± 15.46	4.90 ± 14.15	-
		Athericidae	1.48 ± 5.34	-	0.58 ± 0.72
		Bibionidae	-	7.84 ± 25.08	-
		Blephariceridae	7.35 ± 13.82	-	0.10 ± 0.21
		Calliphoridae	0.62 ± 3.21	7.84 ± 25.08	-
		Cecidomyiidae	3.46 ± 8.75	-	-
		Ceratopogonidae	6.42 ± 21.12	1.96 ± 8.08	0.31 ± 0.58
		Chironomidae	37.79 ± 30.1	39.71 ± 37.91	12.59 ± 9.75
		Dixidae	-	1.47 ± 6.06	0.01 ± 0.04
		Dolichopodidae	2.47 ± 8.9	-	-
		Drosophilidae	0.62 ± 3.21	-	-
		Empididae	2.47 ± 12.83	-	0.46 ± 0.64
		Hybotidae	-	0.98 ± 4.04	-
		Keroplatidae	-	1.96 ± 8.08	-
		Lauxaniidae	-	2.94 ± 12.13	-
		Limoniidae	2.07 ± 6.17	-	1.38 ± 1.74
		Lonchopteridae	1.23 ± 4.45	17.16 ± 28.94	-
		Mycetophilidae	8.18 ± 17.02	14.22 ± 33.04	-
		Opetiidae	-	1.96 ± 8.08	-
		Phoridae	1.23 ± 6.42	7.84 ± 17.79	-
		Pipunculidae	-	2.94 ± 12.13	-
		Platystomatidae	3.70 ± 19.25	-	-
		Psilidae	1.48 ± 5.34	-	-
		Psychodidae	7.96 ± 22.37	3.92 ± 16.17	0.04 ± 0.08
		Ptychopteridae	1.23 ± 6.42	-	-
		Rhagionidae	-	-	0.05 ± 0.1
		Sarcophagidae	1.85 ± 7.06	-	-
		Sciomyzidae	-	1.47 ± 6.06	-
		Simuliidae	15.59 ± 18.29	5.88 ± 24.25	5.51 ± 6.83
		Stratiomyidae	1.85 ± 9.62	8.33 ± 17.18	0.00 ± 0.02
		Syrphidae	2.47 ± 10.03	-	-
		Tabanidae	0.74 ± 3.85	-	-
		Tachinidae	3.33 ± 8.52	13.73 ± 28.4	-
		Thaumaleidae	-	4.41 ± 13.21	-
		Tipulidae	5.99 ± 16.73	15.69 ± 34.09	0.05 ± 0.1
		Undetermined Diptera	5.06 ± 12.21	2.94 ± 12.13	-

Classes	Orders	Families	Frequency of occurrence (%)		Relative density (%)
			Pyrenean desman	Eurasian water shrew	Streams
Insecta	Ephemeroptera	Baetidae	44.64 ± 34.25	15.69 ± 27.14	10.45 ± 9.43
		Caenidae	-	-	0.00 ± 0.01
		Ephemerellidae	29.29 ± 31.81	19.61 ± 34.98	0.37 ± 0.48
		Ephemeridae	8.33 ± 15.87	8.82 ± 26.43	0.28 ± 1.2
		Heptageniidae	57.82 ± 35.96	16.18 ± 24.02	11.53 ± 12.09
		Leptophlebiidae	2.59 ± 10.23	-	1.59 ± 3.45
	Hemiptera	Cercopidae	-	1.47 ± 6.06	-
		Cicadellidae	0.74 ± 3.85	2.94 ± 12.13	-
		Cicadidae	2.84 ± 6.96	-	-
		Gerridae	1.85 ± 9.62	-	-
		Nabidae	-	1.47 ± 6.06	-
		Pentatomidae	1.23 ± 6.42	11.76 ± 28.11	-
		Rhyparochromidae	-	2.94 ± 12.13	-
		Saldidae	1.85 ± 9.62	-	-
		Veliidae	-	11.76 ± 33.21	-
	Hymenoptera	Formicidae	0.74 ± 3.85	-	-
		Platygastridae	1.23 ± 6.42	-	-
		Tenthredinidae	-	2.94 ± 12.13	-
	Lepidoptera	Drepanidae	1.85 ± 9.62	-	-
		Erebidae	1.23 ± 6.42	1.96 ± 8.08	-
		Gelechiidae	-	0.98 ± 4.04	-
		Geometridae	3.83 ± 11.79	4.90 ± 14.15	-
		Noctuidae	-	7.35 ± 14.99	-
	Mecoptera	Panorpidae	-	2.45 ± 7.07	-
	Megaloptera	Sialidae	-	-	0.00 ± 0.02
	Neuroptera	Hemerobiidae	-	2.94 ± 12.13	-
	Odonata	Aeschnidae	-	-	0.00 ± 0.02
		Calopterygidae	1.85 ± 9.62	-	0.02 ± 0.08
		Cordulegastridae	0.93 ± 4.81	1.96 ± 8.08	0.02 ± 0.07
	Orthoptera	Tettigoniidae	-	1.47 ± 6.06	-
	Plecoptera	Chloroperlidae	0.74 ± 3.85	-	0.61 ± 1.58
		Leuctridae	11.15 ± 21.73	22.55 ± 35.33	3.90 ± 3.29
		Nemouridae	26.65 ± 31.67	18.63 ± 36.27	3.65 ± 4.7
		Perlidae	31.00 ± 26.87	8.82 ± 26.43	1.24 ± 1.22
		Perlodidae	3.95 ± 11.02	-	0.83 ± 1.52
		Pteronarcyidae	3.70 ± 14.12	-	-
		Taeniopterygidae	0.93 ± 4.81	-	-

Classes	Orders	Families	Frequency of occurrence (%)		Relative density (%)
			Pyrenean desman	Eurasian water shrew	Streams
Insecta	Trichoptera	Brachycentridae	-	-	11.44 ± 12.69
		Glossosomatidae	-	-	1.52 ± 2.62
		Goeridae	3.21 ± 10.56	-	0.14 ± 0.22
		Hydropsychidae	49.89 ± 29.16	19.12 ± 39.06	6.33 ± 6.44
		Leptoceridae	-	-	0.02 ± 0.06
		Limnephilidae	15.85 ± 18.41	10.78 ± 26.97	0.21 ± 0.53
		Odontoceridae	9.43 ± 18.09	8.82 ± 26.43	0.50 ± 1.12
		Philopotamidae	4.69 ± 12.68	5.88 ± 24.25	0.46 ± 0.83
		Polycentropodidae	-	-	0.03 ± 0.11
		Psychomyiidae	-	-	0.12 ± 0.65
		Rhyacophilidae	5.96 ± 11.8	2.45 ± 7.07	0.73 ± 0.69
		Sericostomatidae	4.07 ± 9.07	-	1.26 ± 1.89
		Uenoidae	-	-	0.01 ± 0.05
Malacostraca	Amphipoda	Gammaridae	20.04 ± 28.05	35.29 ± 39.03	4.78 ± 16.37
	Decapoda	Astacidae	0.74 ± 3.85	-	0.00 ± 0.01
		Penaeidae	0.74 ± 3.85	-	-
	Isopoda	Armadillidiidae	0.74 ± 3.85	-	-
		Idoteidae	-	0.98 ± 4.04	-
		Oniscidae	-	7.84 ± 17.79	-
		Philosciidae	-	7.84 ± 17.79	-
		Trachelipodidae	-	5.88 ± 24.25	-
		Trichoniscidae	-	2.94 ± 12.13	-
Maxillopoda	Sessilia	Chthamalidae	0.93 ± 4.81	-	-
Turbellaria	Tricladida	Planariidae	-	-	0.42 ± 2.31
Undetermined Nemerta			-	5.88 ± 24.25	-

CHAPITRE 7.

Etude des interactions entre le desman des Pyrénées et deux carnivores semi-aquatiques, la loutre d'Europe et le vison d'Amérique

7.1. INTRODUCTION

A ce jour, il existe peu de connaissances précises sur les prédateurs du desman des Pyrénées qui pourraient pourtant jouer un rôle significatif dans la contraction de son aire de répartition, observée depuis une vingtaine d'années dans les Pyrénées françaises (Charbonnel *et al.*, 2016). Les prédateurs recensés à ce jour appartiennent à des groupes taxonomiques variés (Némoz & Bertrand, 2008) incluant :

- un poisson, le brochet *Esox lucius* ;
- des mammifères sauvages comme la loutre d'Europe, le vison d'Amérique et l'hermine *Mustela erminea*, mais également des mammifères domestiques (e.g. chat, chien) ;
- des oiseaux comme le héron cendré *Ardea cinerea*, le héron bihoreau *Nycticorax nycticorax*, la chouette hulotte et la chouette effraie.

La mention de prédation avérée par tous les prédateurs cités est souvent anecdotique (i.e. rarement plus d'une étude) et provient généralement d'observations naturalistes (Némoz & Bertrand, 2008). Seule la prédation par la loutre d'Europe et le vison d'Amérique a fait l'objet d'une attention plus particulière dans la Péninsule Ibérique et s'est révélée être non négligeable (Callejo & Delibes, 1987 ; Adrián Dossío *et al.*, 1988 ; Fernández-López *et al.*, 2014 ; Gisbert & García-Perea, 2014 ; Romero, 2015). Ces deux carnivores mustélidés sont des prédateurs semi-aquatiques qui utilisent les mêmes territoires géographiques (Léger & Ruetten, 2005 ; Fernandes *et al.*, 2008 ; Roos *et al.*, 2015) et les mêmes milieux (i.e. habitats aquatiques) que le desman des Pyrénées, ce qui augmente les probabilités d'interactions entre ces espèces. Pourtant, en France, aucune étude spécifique ne s'est intéressée jusqu'à présent à ces interactions prédateurs-proies alors que ces deux prédateurs sont en phase d'expansion dans les Pyrénées françaises depuis quelques années.

7.1.1. Recolonisation de la loutre d'Europe

La loutre d'Europe est un carnivore natif et protégé (arrêté du 23 avril 2007). Elle est actuellement en phase de recolonisation de ses territoires historiques jusque dans les Pyrénées (Kuhn, 2009). Présente dans les années 1900-1930 sur la quasi-totalité du territoire français métropolitain (Figure 7-1), la loutre d'Europe a été longtemps chassée pour sa fourrure et pour sa concurrence avec l'Homme pour la ressource halieutique. Elle a également subi les conséquences de la dégradation des milieux aquatiques du fait du développement des activités humaines (e.g. industrialisation,

agriculture intensive, pollution, fragmentation des territoires, développement urbain et routier ; Kuhn, 2009). L'ensemble de ces pressions sur les populations et les habitats de la loutre d'Europe a mené à une réduction importante de son aire de répartition française au cours du XX^{ème} siècle (Figure 7-1).

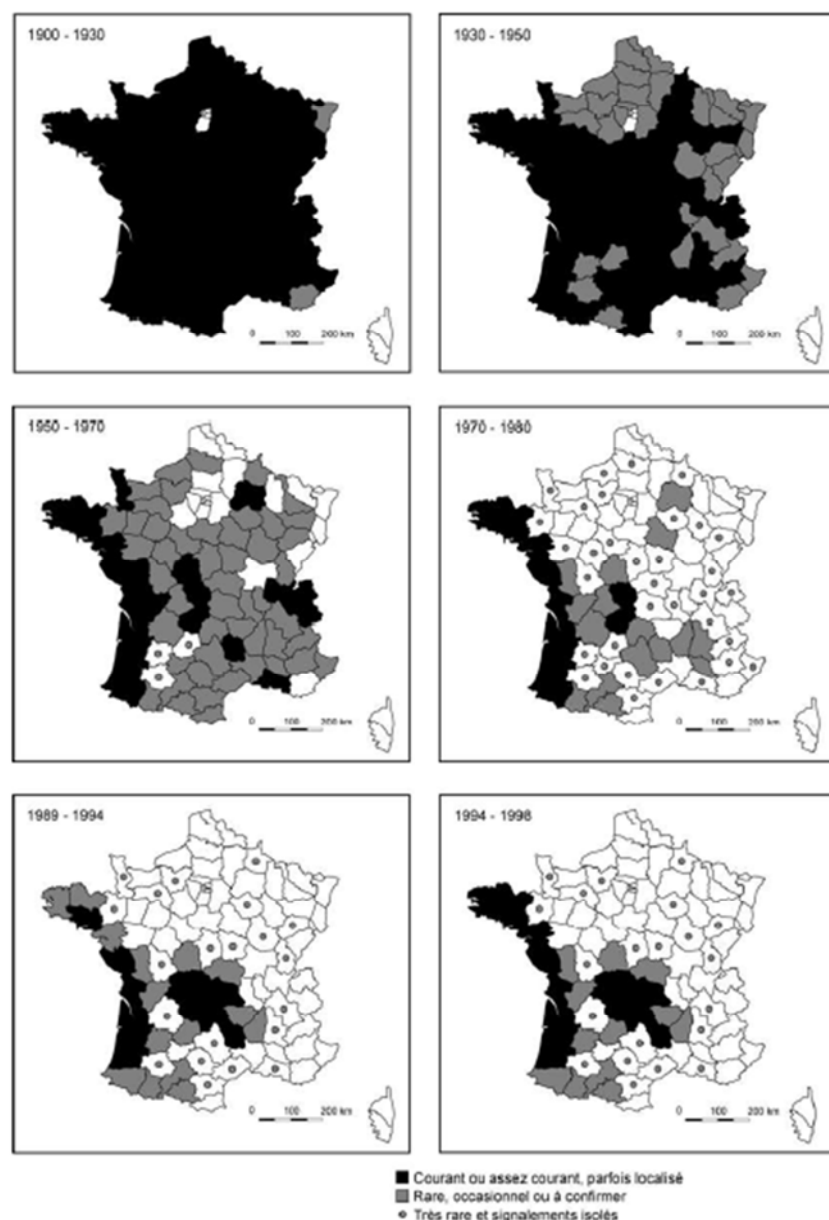


Figure 7-1: Evolution de la répartition de la loutre d'Europe en France au XX^{ème} siècle (© SFEPM, SPN-IEGB-MNHN, d'après Kuhn, 2009).

Dans les Pyrénées françaises, la loutre d'Europe a progressivement disparu des départements situés à l'est puis s'est raréfiée au centre et à l'ouest dans les années 1980-1990 (Figure 7-1). A cette même période, les données de distribution du desman des Pyrénées indiquaient une présence importante

sur l'ensemble de ces territoires (Bertrand, 1994 ; Charbonnel *et al.*, 2016). A la fin des années 1980, la loutre d'Europe n'était pratiquement plus représentée en France que par deux noyaux de populations isolés sur la façade Atlantique et dans le Massif Central (Figure 7-1).

Face à la régression rapide et conséquente de la loutre d'Europe sur le territoire français, sa chasse a été interdite en 1972 et l'espèce bénéficie d'un statut de protection réglementaire depuis 1981 (i.e. Loi sur la Protection de la Nature du 10 juillet 1976 et arrêté ministériel modifié du 17 avril 1981, arrêté du 23 avril 2007 la classant comme espèce protégée). La loutre d'Europe est également citée dans l'Annexe I de la CITES (1973), l'Annexe II de la Convention de Berne et est inscrite dans les Annexes II et IV de la Directive européenne Habitats Faune Flore 97/62/CEE.

Suite à la mise en place de ces mesures de protection, à l'amélioration de la qualité de ses habitats (e.g. qualité de l'eau, interdiction de certains pesticides) mais aussi à la conduite de campagnes de conservation (e.g. PNA en faveur de la loutre d'Europe : Kuhn, 2009 ; aménagements d'ouvrages pour réduire la mortalité routière : Lafontaine & Liles, 2005), la loutre d'Europe est actuellement en phase de recolonisation naturelle du territoire français métropolitain (Figure 7-2). Les cours d'eau pyrénéens voient ainsi revenir progressivement la loutre d'Europe depuis quelques années (Gomes, 2011 ; Ruys & Fournier, 2014).

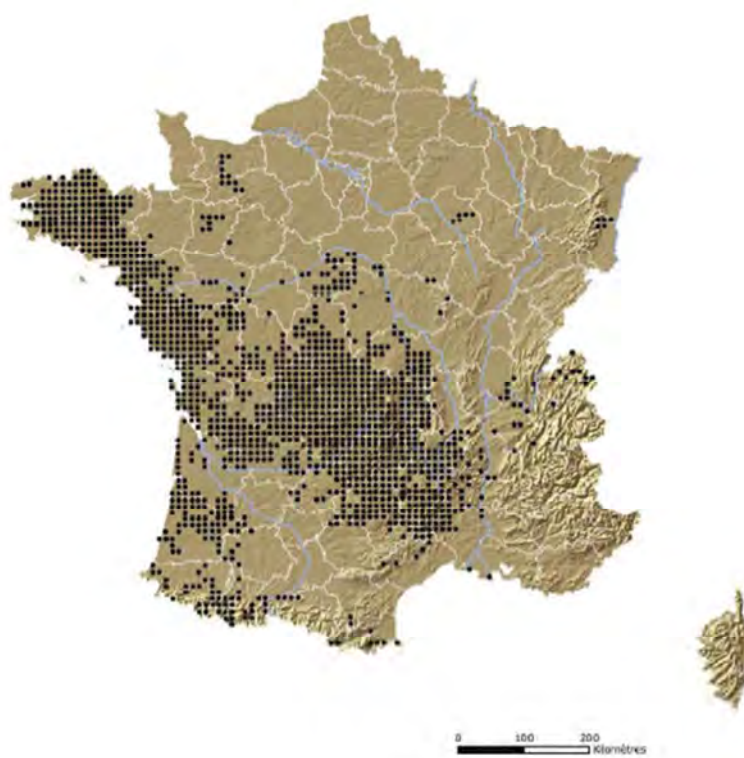


Figure 7-2 : Carte de répartition de la loutre d'Europe en France pour la période 1999-2009, d'après Kuhn (2009).

7.1.2. Invasion du vison d'Amérique

Originaire d'Amérique du Nord, le vison d'Amérique a été introduit et élevé de façon intensive en Europe au cours du XX^{ème} siècle à des fins commerciales (i.e. commerce de la fourrure). Les premières fermes d'élevage de vison d'Amérique ont ouvert en France en 1926 en Haute-Savoie avant de s'étendre à d'autres régions. Après un premier essor rendu éphémère par la crise économique de 1929, c'est au cours des décennies 1950-1960 que l'élevage du vison d'Amérique a atteint son apogée en France avec près de 300 visonnières pouvant parfois compter plusieurs dizaines de milliers de femelles reproductrices (Léger & Ruette, 2005). Une crise de la profession fera diminuer ce nombre à partir des années 1980 pour ne plus compter qu'une vingtaine de visonnières en 1999 et encore moins actuellement.

Contrairement à l'évasion ponctuelle d'individus de vison d'Amérique observée dans les départements qui hébergeaient des fermes d'élevage depuis leur ouverture, les évasions en nombre qui ont eu lieu dans les années 1960 ont conduit à la constitution de populations férales acclimatées aux milieux naturels. Ces populations ont acquis une dynamique de colonisation rapide et importante (Léger & Ruette, 2005). Cette espèce a en effet franchi avec succès tous les stades du processus d'invasion biologique (Figure 7-3 ; Richardson *et al.*, 2000).

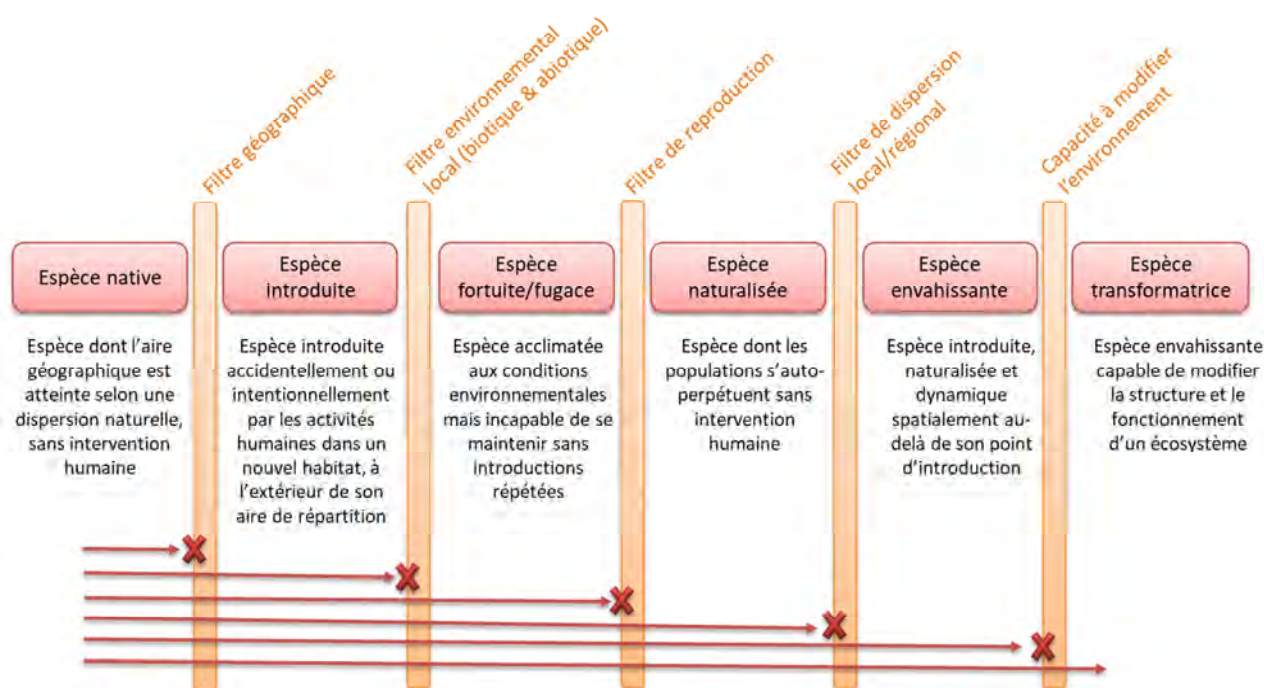


Figure 7-3 : Processus d'invasion biologique adapté de Richardson *et al.* (2000).

A la fin des années 1990, trois populations férales étaient référencées : une en Bretagne, une en Charente et une dans le bassin de l'Adour (Figure 7-4).

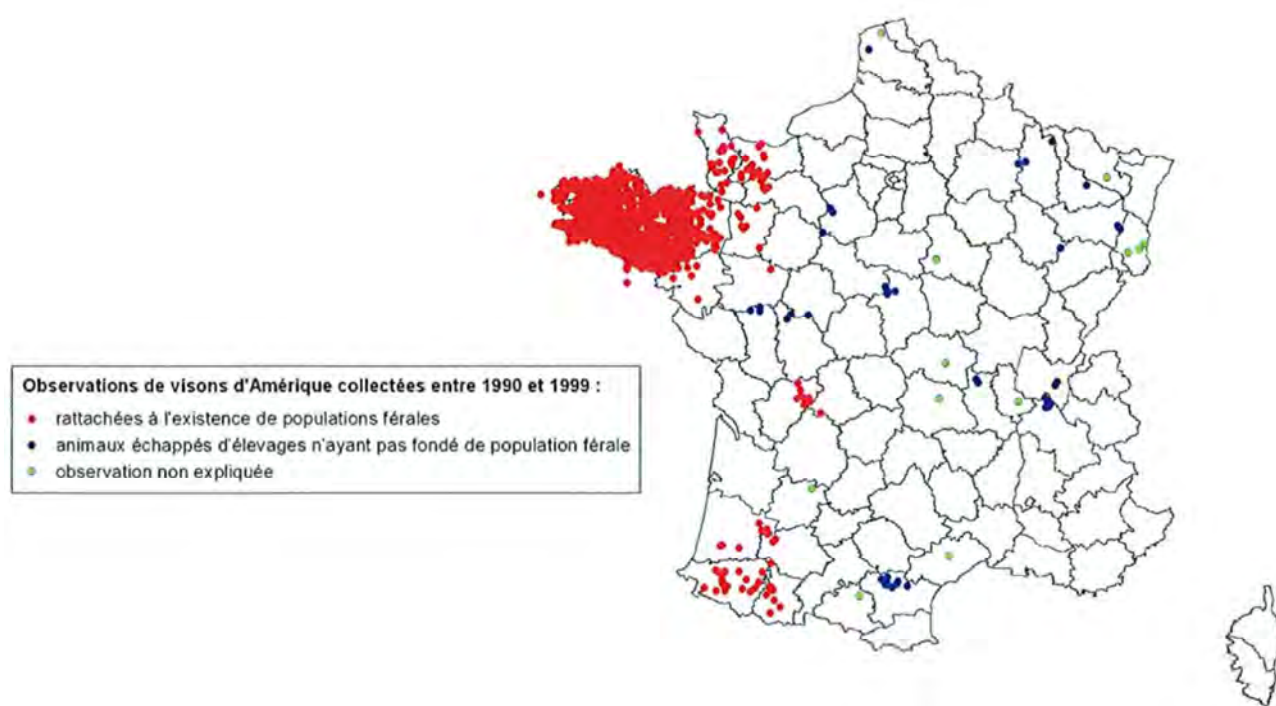


Figure 7-4 : Observations de vison d'Amérique en France entre 1990 et 1999 (Léger & Ruette, 2005).

Depuis le début des années 2000, les populations de vison d'Amérique n'ont cessé de s'étendre. Elles occupent actuellement une grande partie des Pyrénées françaises (Figure 7-5).

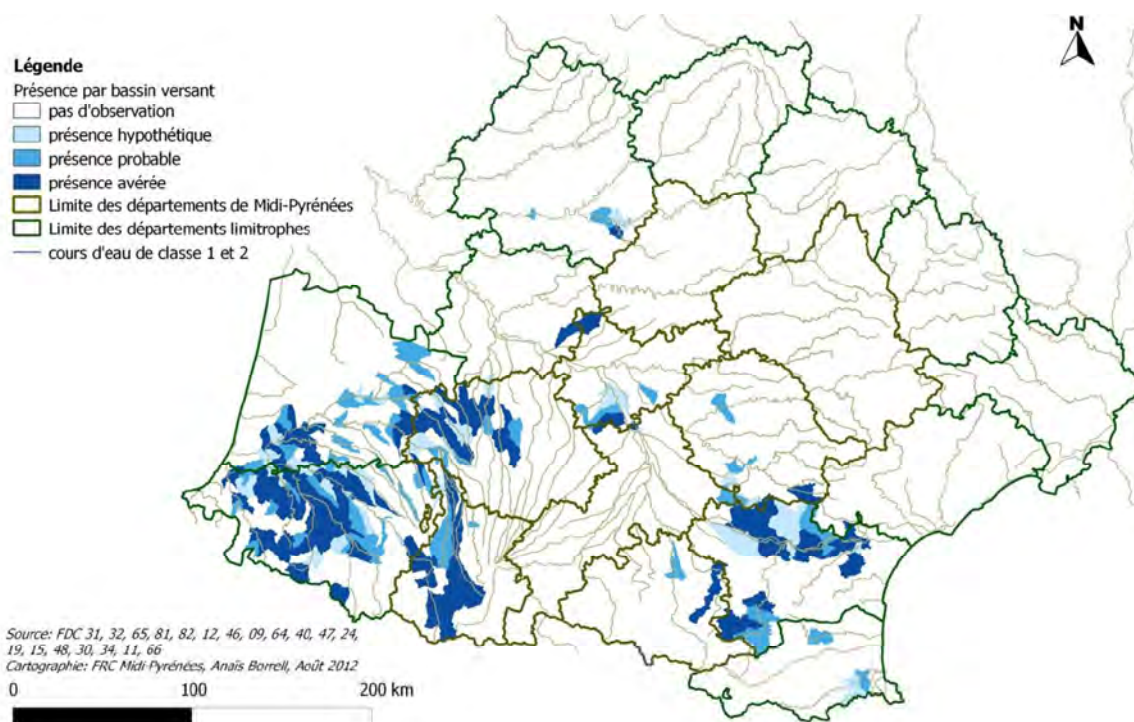


Figure 7-5 : Répartition du vison d'Amérique dans le sud-ouest de la France en 2012 (Borrell, 2012 ; Borrell & Saint-Hilaire, 2012). La présence du vison d'Amérique dans une zone hydrographique est considérée (i) avérée lorsque des captures ont été vérifiées en au moins deux sites de la zone, ou lorsque plus de trois captures ont été réalisées sur un même site, (ii) probable lorsque les captures ont été vérifiées en un seul site de la zone ou sont issues d'observations visuelles par des personnes qualifiées, ou (iii) hypothétique si les observations sont douteuses ou si les zones sont supposées colonisées du fait de leur enclave entre deux zones hydrographiques occupées par l'espèce (Borrell, 2012).

Le vison d'Amérique est actuellement considéré comme espèce envahissante et est classé comme « nuisible » dans le droit français. Son invasion est à l'origine de nombreuses conséquences négatives sur les populations locales d'espèces natives, qu'il peut impacter en tant que prédateur généraliste et opportuniste ou compétiteur. Le vison d'Amérique est par exemple l'un des facteurs évoqués pour expliquer la réduction locale des densités de populations d'oiseaux et de micromammifères (e.g. nord de l'Europe : Barreto *et al.*, 1998 ; Nordström *et al.*, 2003 ; Banks *et al.*, 2004). Dans les territoires qu'il colonise, il entre également en compétition avec les carnivores natifs (e.g. putois *Mustela putorius*, vison d'Europe, hermine ; Maran *et al.*, 1998 ; Sidorovich & Macdonald, 2001 ; Harrington & Macdonald, 2008 ; Põdra *et al.*, 2013). L'impact négatif du vison d'Amérique est aussi important sur le vison d'Europe (i.e. compétition pour la nourriture, transmission de maladie, comportement agressif ; Macdonald & Harrington, 2003) qui est plus vulnérable du fait de sa plus petite taille, de son comportement moins agressif et de sa dynamique de reproduction moins efficace. En France, le vison d'Amérique n'est pas considéré comme la cause principale du déclin du vison d'Europe (Lodé *et al.*, 2001) mais comme une pression supplémentaire importante qui s'ajoute aux altérations de ses habitats et qui peut compromettre sa survie (GEREA, 2007).

7.1.3. Objectifs

Dans le contexte de recolonisation de la loutre d'Europe et d'invasion du vison d'Amérique dans les Pyrénées françaises, l'objectif de ce chapitre est de réaliser une étude préliminaire sur l'influence potentielle de ces deux prédateurs sur le desman des Pyrénées en France à deux niveaux imbriqués : (i) l'évolution récente des aires de distribution de ces deux prédateurs en regard de la contraction de l'aire de répartition du desman des Pyrénées, et (ii) la pression de prédation que ces deux prédateurs pourraient exercer sur le desman des Pyrénées.

7.2. EVOLUTION RECENTE DE LA REPARTITION DU VISON D'AMERIQUE⁶ ET DU DESMAN DES PYRENEES DANS LES PYRENEES FRANÇAISES

Afin d'évaluer le rôle potentiel du vison d'Amérique dans la contraction de l'aire de répartition du desman des Pyrénées, une approche de modélisation statistique, les modèles de distribution d'espèces (i.e. Species Distribution Models en anglais ou SDM ; Guisan & Zimmermann, 2000 ; Elith & Leathwick, 2009), a été utilisée. Ces modèles sont basés sur le principe de niche écologique d'Hutchinson (1957) qui identifie l'espace multidimensionnel défini par les conditions environnementales dans lequel l'espèce peut se maintenir. Les modèles de distribution d'espèces sont des approches corrélatives qui cherchent à modéliser statistiquement la relation existant entre des données de distribution d'espèces et les conditions environnementales des zones où l'espèce est présente par rapport aux conditions des zones où elle n'est pas détectée (Guisan & Zimmermann, 2000). Ces modèles statistiques sont devenus des outils particulièrement utiles pour la conservation car ils permettent d'évaluer l'importance des facteurs environnementaux qui déterminent la distribution des espèces. Ces outils prédictifs permettent aussi d'estimer la probabilité de présence des espèces dans des régions qui ne sont pas couvertes par des prospections exhaustives (Guisan & Zimmermann, 2000).

⁶ Cette question n'a été abordée que pour le vison d'Amérique du fait du manque de données fiables sur l'évolution récente de l'aire de distribution de la loutre d'Europe dans les Pyrénées françaises à une résolution spatiale suffisamment fine.

Dans ce contexte, cette approche est utilisée afin de tester la contribution de la présence du vison d'Amérique, par rapport à d'autres variables environnementales, pouvant expliquer la contraction de l'aire de répartition du desman des Pyrénées dans les Pyrénées françaises au cours des trois dernières décennies.

7.2.1. Matériels et méthodes

7.2.1.1. Données de distribution du desman des Pyrénées et du vison d'Amérique

Les données de distribution du desman des Pyrénées sont issues du travail de recherche d'Alain Bertrand (Bertrand, 1994) pour la période historique 1985-1990 et des prospections réalisées dans le cadre du PNAD pour la période actuelle 2011-2013 (Némoz & Bertrand, 2008 ; Charbonnel, 2015 ; Charbonnel *et al.*, 2016). Un total de 718 sites en 1985-1990 et 1330 sites en 2011-2013, répartis sur l'ensemble des Pyrénées françaises, ont ainsi été prospectés une seule fois à la recherche de fèces de desman des Pyrénées. Chaque site d'échantillonnage correspondait à un linéaire de cours d'eau de maximum 500 m de long. Si la totalité des 500 m de cours d'eau a été méticuleusement inspectée dans le cadre des prospections du PNAD, la prospection d'A. Bertrand (1994) était interrompue à la première fèces détectée. La confirmation de présence du desman des Pyrénées dans les sites échantillonnés est ainsi basée sur l'expertise naturaliste d'A. Bertrand (1994) pour la période historique et sur la validation génétique de l'auteur des fèces pour la période actuelle (Charbonnel, 2015 ; Charbonnel *et al.*, 2016 ; cf. chapitre 2, §2.3.3 pour la méthodologie de génétique utilisée).

Les données de distribution du vison d'Amérique ont été fournies pour la période historique (1980-1990) et la période actuelle (2011-2014) par plusieurs structures naturalistes⁷ réparties sur l'ensemble des Pyrénées françaises. Seules les données de présence validée ont été conservées pour cette étude. La résolution spatiale des données de distribution du vison d'Amérique étant très hétérogène selon les sources (i.e. coordonnées GPS, maille de 10 km, commune, zone hydrographique), elles ont été compilées à l'échelle la plus grossière des zones hydrographiques de la BD CARTHAGE (Figure 7-6). Ainsi, les données de distribution du desman des Pyrénées ont également été compilées à la même échelle pour les deux périodes de prospection (Figure 7-6).

⁷ Partenaires : ANA, CEN-MP, CEN-A, Cistude Nature (données issues de Fournier-Chambrillon *et al.*, 2014), FAC, FRC-MP (données issues de l'Enquête Régionale Vison d'Amérique (*Neovison vison*) - FRC Midi-Pyrénées 2012), FRNC, GREGE, GOR, Union Meridionalis, NMP (données issues de la base de données BazNat), ONCFS (données ONCFS 1950-1999 et 2000-2014), SFEPM par l'intermédiaire de Stéphane Aulagnier (CEFS-INRA Toulouse) et Françoise Poitevin (EPHE-CNRS-CEFE Montpellier).

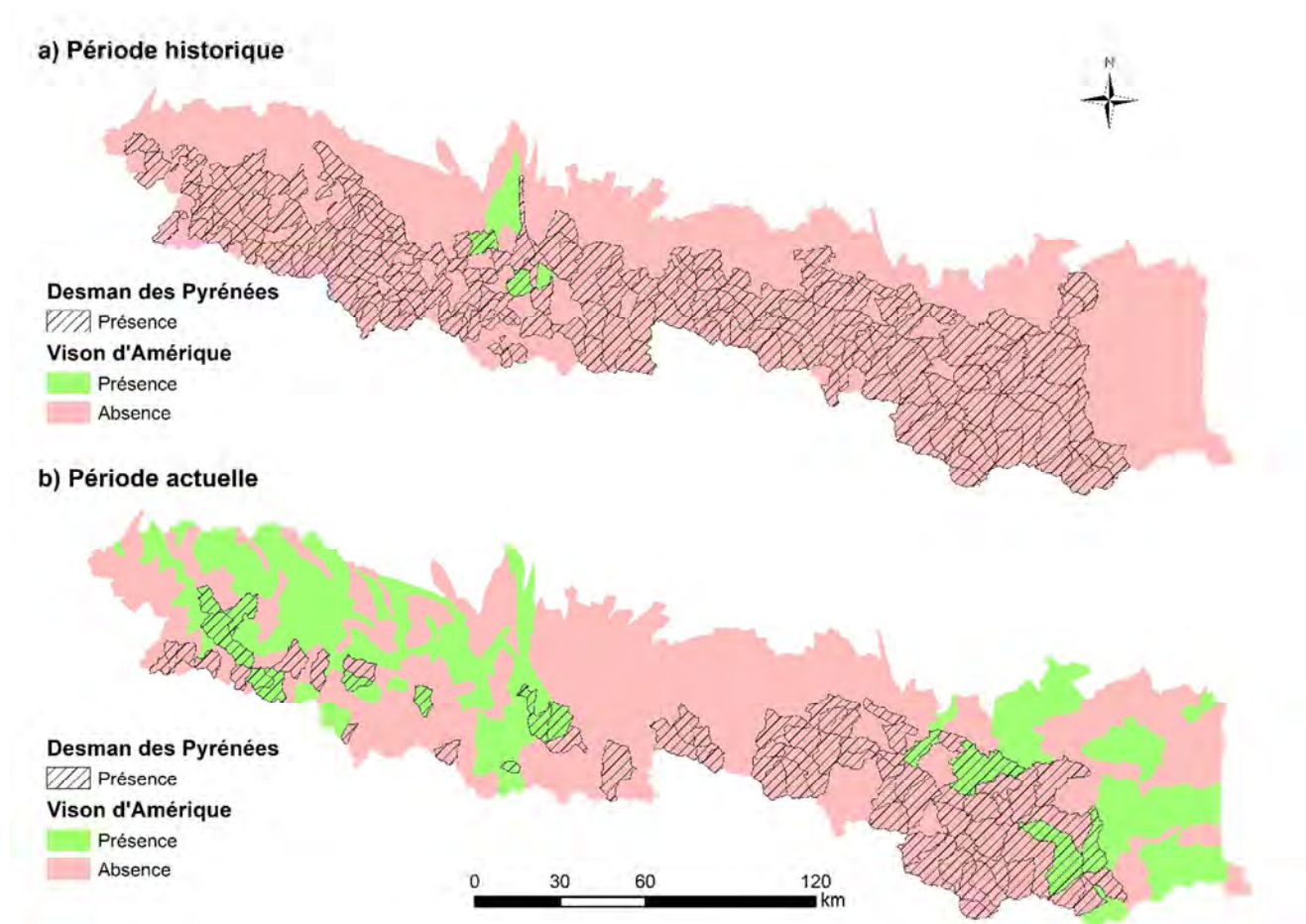


Figure 7-6 : Distribution du vison d'Amérique (@données compilées fournies par ANA, CEN-A, CEN-MP, Cistude Nature, FAC, FRC-MP, FRNC, GREGE, GOR, Union Meridionalis, NMP, ONCFS, SFEPM) et du desman des Pyrénées (@Bertrand, 1994 ; Charbonnel et al., 2016) pour la période historique (i.e. années 1980-1990) et actuelle (i.e. 2011-2013).

7.2.1.2. Données environnementales

Plusieurs variables environnementales extraites de bases de données existantes (Charbonnel, 2015 ; Charbonnel *et al.*, 2016) ont été calculées à la résolution spatiale des zones hydrographiques de la BD CARTHAGE pour les périodes historique et actuelle. Ces variables décrivent le nombre d'affluents (AFFL), l'occupation du sol (% de zones urbaines URB, de zones agricoles AGR, de zones naturelles NAT et de forêts FOR ; ©Union Européenne – SoeS, Corine Land Cover, 2006), la pente des cours d'eau (PEN), la densité de population humaine (POP ; © BD GEOFLA, IGN), la densité d'obstacles à l'écoulement (OBS ; ©ROE, AFB), les précipitations (PCP) et les températures de l'air (TEM) moyennes annuelles (©SAFRAN METEO-France) ainsi que le débit moyen (DEB).

7.2.1.3. Approche statistique de modélisation

La modélisation a été effectuée en deux étapes. Dans un premier temps, les données de présence et d'absence du vison d'Amérique ont été couplées aux 11 variables environnementales pour prédire sa probabilité de présence dans la zone d'étude (i.e. variable nommée VIS). Dans un second temps, la probabilité de présence du desman des Pyrénées dans les zones hydrographiques a été modélisée à partir des 11 mêmes variables environnementales (i.e. modèle « abiotique »). Un second modèle incluant les 11 variables environnementales et la probabilité de présence du vison d'Amérique prédite à la première étape (VIS) a été construit pour expliquer la distribution du desman des Pyrénées (i.e. modèle « abiotique + vison »). Ces deux étapes ont été réalisées pour les deux périodes séparément en utilisant les jeux de données de distribution et de variables environnementales respectifs. Au total, trois modèles ont ainsi été construits par période : (i) modèle vison d'Amérique, (ii) modèle desman des Pyrénées « abiotique », et (iii) modèle desman des Pyrénées « abiotique + vison » (Figure 7-7).

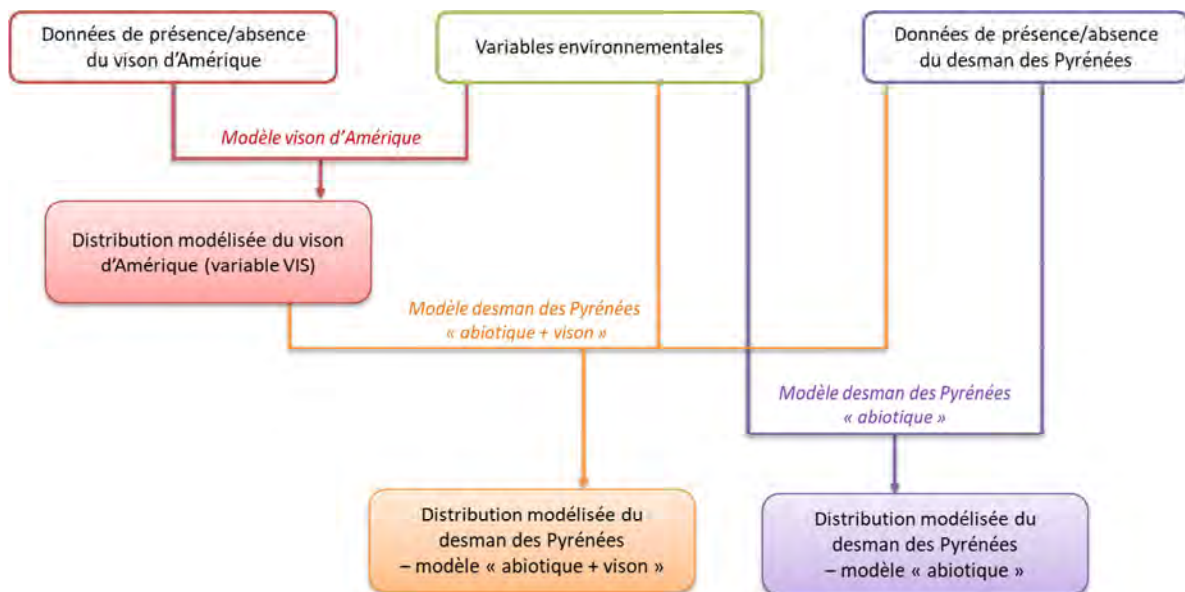


Figure 7-7 : Méthodologie utilisée pour construire les modèles de distribution du vison d'Amérique et du desman des Pyrénées dans les Pyrénées françaises. La méthodologie est similaire pour la période historique et actuelle.

Une approche d'ensemble (Marmion *et al.*, 2009) a été utilisée afin de limiter l'incertitude liée au choix d'une méthode de modélisation statistique (Buisson *et al.*, 2010). Ainsi, cinq méthodes couramment utilisées ont été sélectionnées : les modèles linéaires généralisés (GLM), les réseaux de neurones artificiels (ANN), les Generalised Boosting models (GBM), les régressions multivariées par spline adaptatif (MARS) et les analyses discriminantes (FDA). Ces modèles ont été implémentés grâce

au package BIOMOD du logiciel R 3.3.2 (R Core Team, 2014). Les valeurs par défaut des paramètres ont été conservées.

Pour chaque période et chaque étape, ces modèles ont été construits en utilisant les données de 80 % des zones hydrographiques choisies aléatoirement (i.e. jeu de calibration). Les 20 % restantes ont permis d'évaluer la performance prédictive des modèles (i.e. jeu de validation). Cette procédure a été répétée 30 fois en utilisant à chaque répétition un jeu de calibration et de validation tiré aléatoirement. Du fait du faible nombre de zones hydrographiques où le vison d'Amérique était présent pour la période historique ($n = 5$; Figure 7-6a), cette procédure de validation n'a pas pu être appliquée pour prédire la probabilité de présence de l'espèce durant la période historique. Ainsi, pour le modèle vison d'Amérique historique, la totalité des données de présence et d'absence du vison d'Amérique ont été utilisées pour la calibration et la validation. Pour chaque espèce et chaque période, les prédictions de probabilité de présence dans chacune des zones hydrographiques ont été moyennées pour l'ensemble des cinq méthodes statistiques et des 30 répétitions (i.e. 150 prédictions au total pour chaque espèce et chaque période). La performance prédictive des modèles a été quantifiée à l'aide de l'AUC (Zweig & Campbell, 1993) qui mesure la capacité des modèles à prédire correctement les présences et les absences.

Afin de quantifier la contribution relative de chaque variable pour expliquer la distribution du vison d'Amérique et du desman des Pyrénées dans chaque période, le coefficient de corrélation de Pearson a été calculé entre les prédictions de chacun des 150 modèles pour chaque espèce et les prédictions d'un modèle obtenu en permutant de façon aléatoire les variables explicatives (Thuiller *et al.*, 2009).

7.2.2. Résultats

Comme mentionné précédemment, le vison d'Amérique n'a été détecté que dans cinq zones hydrographiques sur les 408 que compte la zone d'étude durant la période historique (1.2 % ; Figure 7-6a). Ce chiffre atteint 127 zones hydrographiques (31.1 %) pour la période actuelle traduisant une expansion rapide de cette espèce dans les Pyrénées. Le vison d'Amérique est plus présent pour la période actuelle aux deux extrémités des Pyrénées et reste relativement absent dans la partie centrale (Figure 7-6b).

Globalement, les modèles calibrés pour le vison d'Amérique ont des performances prédictives correctes pour les deux périodes (historique : $AUC = 0.93 \pm 0.09$; actuelle : $AUC = 0.72 \pm 0.06$) indiquant que les probabilités de présence du vison d'Amérique prédites par ces modèles peuvent

être utilisées comme une variable d'entrée (VIS) dans les modèles de distribution du desman des Pyrénées. La diminution des performances prédictives entre les deux périodes est vraisemblablement due à l'augmentation du nombre de présences entre les deux périodes. La performance prédictive du modèle historique est en effet probablement surestimée du fait que la calibration et la validation ont été effectuées avec les mêmes données (Thuiller *et al.*, 2016).

Les probabilités de présence modélisées du vison d'Amérique (Figure 7-8) durant la période actuelle sont les plus fortes à l'ouest et à l'est des Pyrénées. Elles sont cohérentes avec les zones hydrographiques de présence du vison d'Amérique (Figure 7-6b), même si son expansion à l'est des Pyrénées semble légèrement sous-estimée.

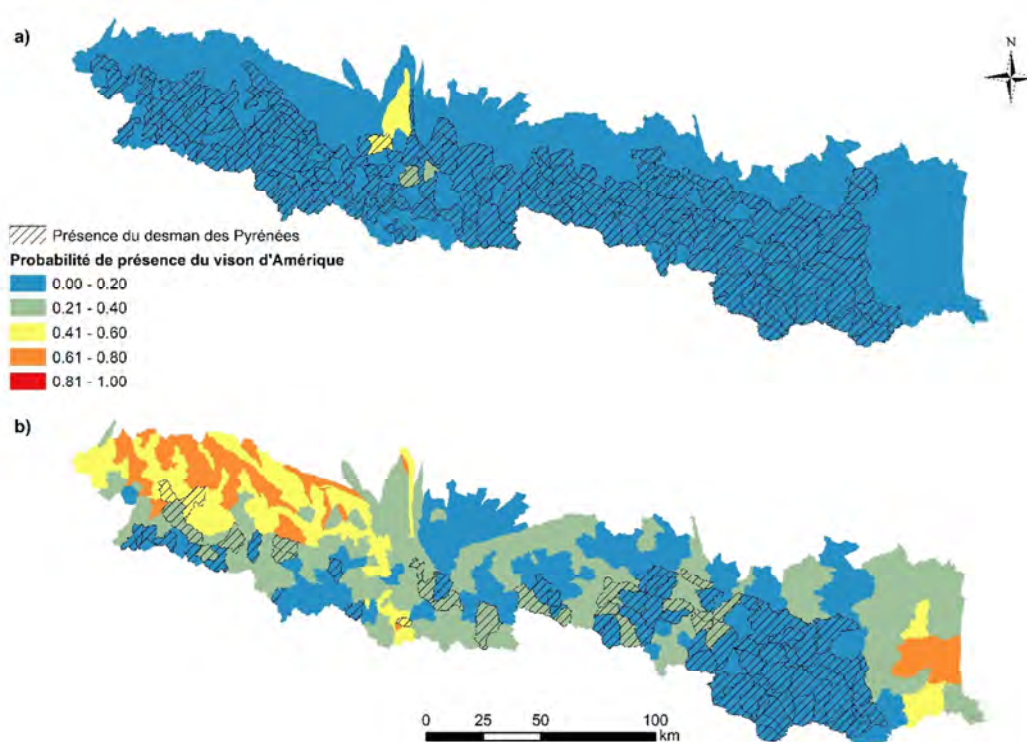


Figure 7-8 : Probabilité de présence du vison d'Amérique prédite par les modèles et présence avérée du desman des Pyrénées dans les Pyrénées françaises (a) pour la période historique, et (b) pour la période actuelle.

La présence du desman des Pyrénées a été détectée (Figure 7-6) dans 188 zones hydrographiques (46.1 %) pour la période historique contre seulement 75 pour la période actuelle (18.4 %). Les performances prédictives des modèles sont relativement élevées et sont quasiment identiques entre les modèles « abiotique » et « abiotique + vison » pour les deux périodes de modélisation (historique : $AUC = 0.82 \pm 0.05$; actuelle: $AUC = 0.79 \pm 0.06$ pour les modèles « abiotique » et « abiotique + vison »).

Comme pour les performances prédictives, les probabilités de présence du desman des Pyrénées prédites par les modèles « abiotique » et « abiotique + vison » sont très similaires aussi bien pour la période historique que pour la période actuelle (Figure 7-9). La probabilité de présence du desman des Pyrénées était élevée historiquement dans une grande partie des Pyrénées françaises, à l'exception des Pyrénées Atlantiques et des Pyrénées Orientales ainsi que des parties les plus en aval (Figures 7-9a et 7-9b). Ces résultats confirment ceux de Charbonnel *et al.* (2016) à une résolution spatiale plus fine (i.e. tronçons de rivière). La probabilité de présence du desman des Pyrénées a fortement diminué entre la période historique et la période actuelle (Figure 7-9). Les zones hydrographiques où la probabilité de présence du desman des Pyrénées reste aujourd'hui relativement élevée se limitent au sud du département de l'Ariège et de l'Aude et à l'ouest des Pyrénées Orientales (Figures 7-9c et 7-9d). Une légère diminution des probabilités de présence du desman des Pyrénées est observée dans les zones les plus favorables entre les modèles « abiotique » et « abiotique + vison » pour la période actuelle. Il est aussi intéressant de noter que les zones hydrographiques où a été détecté le vison d'Amérique pour la période actuelle ont pratiquement toutes une probabilité de présence du desman des Pyrénées inférieure à 0.2 (Figures 7-9c et 7-9d). Il subsiste néanmoins quelques zones hydrographiques ayant une forte probabilité de présence du desman des Pyrénées (> 0.6) alors que le vison d'Amérique y est également présent.

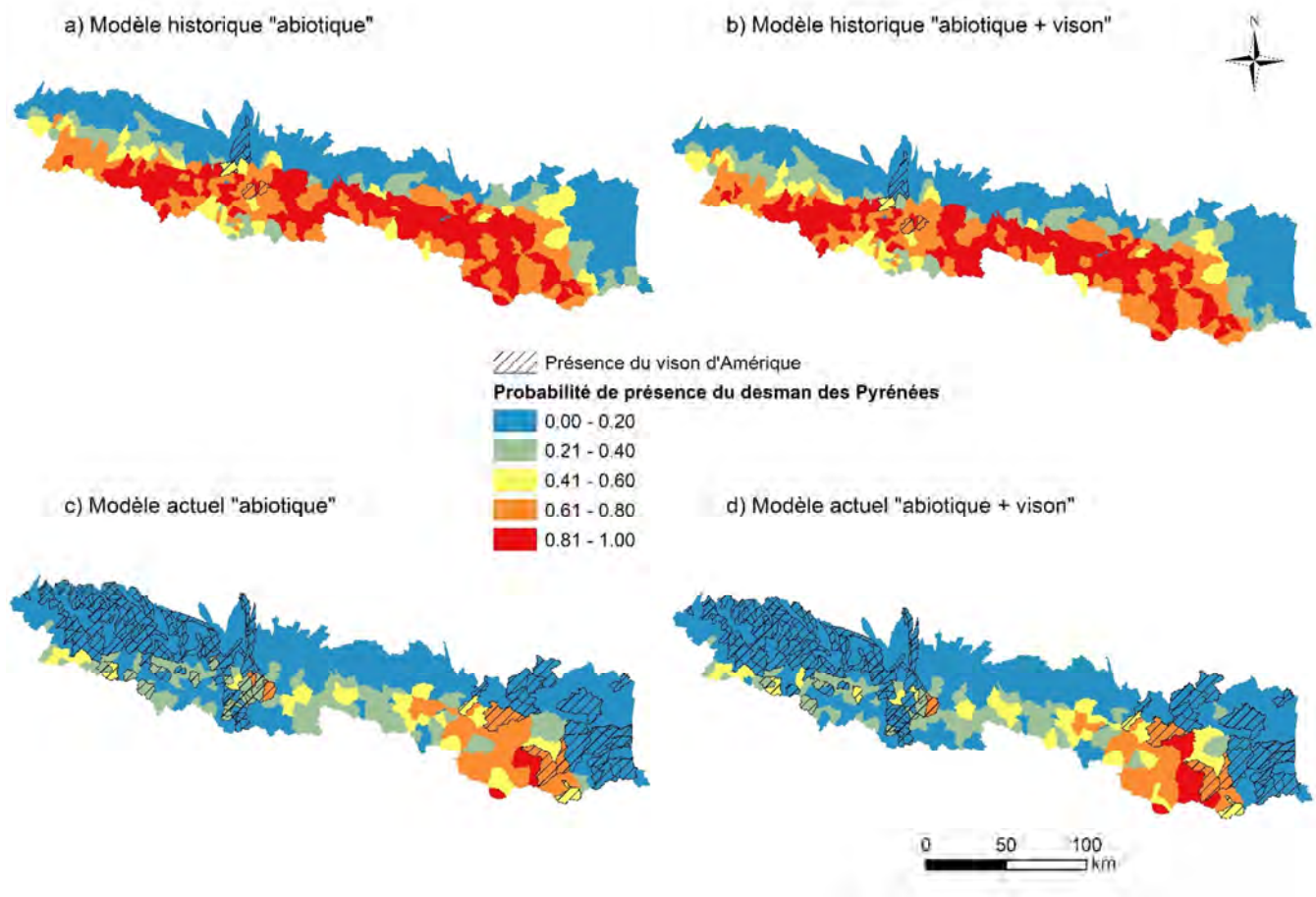


Figure 7-9 : Probabilité de présence du desman des Pyrénées prédite et présence du vison d'Amérique dans les Pyrénées françaises. (a) modèle « abiotique » pour la période historique, (b) modèle « abiotique + vison » pour la période historique, (c) modèle « abiotique » pour la période actuelle et (d) modèle « abiotique + vison » pour la période actuelle.

Les variables environnementales contribuant le plus à la distribution du desman des Pyrénées pour la période historique sont la pente des tronçons de cours d'eau et la température de l'air pour les modèles « abiotique » et « abiotique + vison » (Figure 7-10). Les paramètres estimés par les modèles suggèrent que le desman des Pyrénées semble préférer des cours d'eau où les pentes sont intermédiaires et où les températures sont plutôt fraîches. La probabilité de présence du vison d'Amérique n'explique pratiquement pas la distribution du desman des Pyrénées à cette période (Figure 7-10b).

Pour la période actuelle, la pente des cours d'eau est toujours la variable environnementale qui explique le plus la distribution du desman des Pyrénées. Pour le modèle « abiotique », elle est suivie par la proportion de zones naturelles (Figure 7-10a). Par contre, la probabilité de présence du vison d'Amérique est la seconde variable la plus influente pour expliquer la distribution du desman des Pyrénées pour le modèle « abiotique + vison » actuel (Figure 7-10b). La probabilité de présence du vison d'Amérique influence négativement celle du desman des Pyrénées (i.e. signe négatif associé à

la variable dans les paramètres estimés per les modèles). La relation avec la pente du cours d'eau est similaire à celle modélisée pour la période historique (i.e. préférence pour des pentes intermédiaires) pour les deux modèles (« abiotique » et « abiotique + vison »). Enfin, le desman des Pyrénées semble avoir une plus forte probabilité de présence dans les zones hydrographiques comportant plus de zones naturelles pour les deux modèles durant la période actuelle.

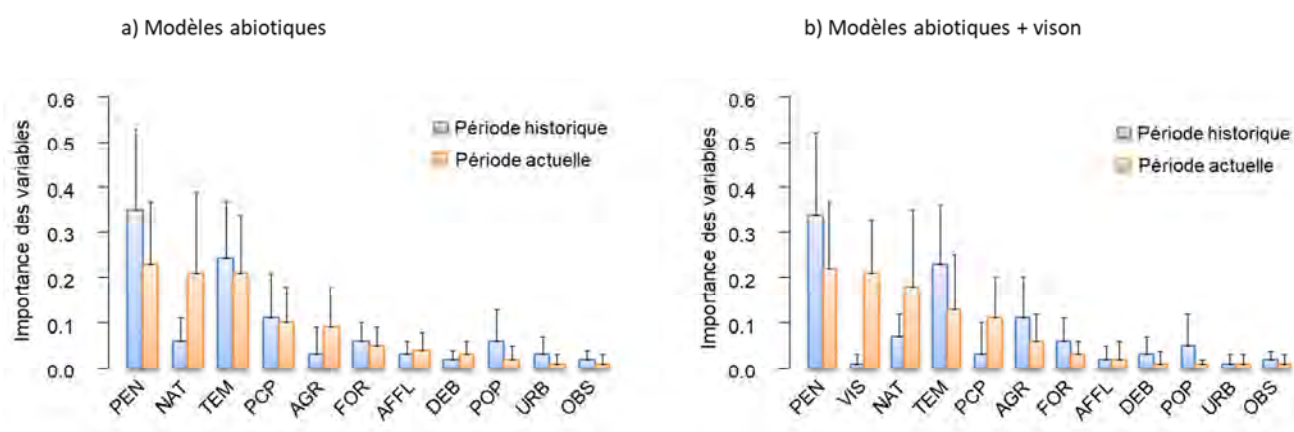


Figure 7-10 : Contribution relative des variables environnementales et de la probabilité de présence du vison d'Amérique dans les modèles de distribution du desman des Pyrénées (a) « abiotique » et (b) « abiotique + vison » pour la période historique (bleu) et la période actuelle (orange). Les variables (PEN, VIS, NAT, TEM, PCP, AGR, FOR, AFFL, DEB, POP, URB, OBS) sont classées par ordre d'importance pour la période actuelle. Les bâtons et les barres d'erreur correspondent respectivement à la valeur moyenne et à l'écart-type calculés sur les cinq méthodes de modélisation et les 30 répétitions.

7.2.3. Discussion

Une approche de modélisation a été utilisée pour tester l'influence de la présence du vison d'Amérique sur la distribution du desman des Pyrénées en France à deux périodes : une période historique durant laquelle le vison d'Amérique était peu présent dans les Pyrénées tandis que le desman des Pyrénées avait une répartition assez large, et une période actuelle durant laquelle les tendances de répartition se sont inversées. En effet, la probabilité de présence du desman des Pyrénées a fortement diminué entre ces deux périodes (Charbonnel *et al.*, 2016) tandis que l'aire de répartition du vison d'Amérique s'est fortement étendue (Léger & Ruette, 2005).

Les premiers résultats semblent indiquer une influence significative du vison d'Amérique pour expliquer la distribution actuelle du desman des Pyrénées (i.e. modèles « abiotique + vison »). L'influence négligeable de la présence de ce prédateur durant la période historique était attendue puisque l'espèce était encore très peu présente dans les Pyrénées françaises (Figure 7-6). Par contre, la présence du vison d'Amérique est la seconde variable la plus importante pour expliquer la distribution du desman des Pyrénées pour la période actuelle et influence négativement sa

probabilité de présence. Ce résultat suggère que l'expansion du vison d'Amérique pourrait avoir joué un rôle dans la contraction de l'aire de répartition du desman des Pyrénées observée en France.

Cependant, la probabilité de présence du vison d'Amérique ne permet pas d'améliorer les performances prédictives de la distribution du desman des Pyrénées par rapport au modèle qui ne tient pas compte de cette variable, comme cela aurait été attendu. En effet, plusieurs études ont montré que l'inclusion de variables biotiques permet globalement de mieux expliquer la distribution des espèces en incluant des interactions variées, telles que la présence de prédateurs (e.g. Hof *et al.*, 2012), de potentiels compétiteurs (e.g. Bateman *et al.*, 2012 ; Leach *et al.*, 2016), des ressources trophiques (e.g. Bateman *et al.*, 2012 ; Hof *et al.*, 2012 ; de Araújo *et al.*, 2014) ou d'espèces facilitatrices (e.g. Araújo & Luoto, 2007 ; Heikkinen *et al.*, 2007 ; Barbet-Massin & Jiguet, 2011). Dans les rares cas où la performance prédictive des modèles n'était pas améliorée, ces études concluaient à une influence moindre de ces variables biotiques par rapport aux variables abiotiques (e.g. Meineri *et al.*, 2012 ; Leach *et al.*, 2016). Cette conclusion ne semble toutefois pas pouvoir s'appliquer à cette étude au vue du classement de la variable de probabilité de présence du vison d'Amérique par rapport aux autres variables environnementales pour la période actuelle. D'autres hypothèses pourraient ainsi être formulées :

- le modèle prédisant la probabilité de présence du vison d'Amérique pourrait avoir des performances prédictives limitées ce qui pourrait impacter la performance des modèles intégrant cette variable pour prédire la distribution du desman des Pyrénées. En effet, il sous-estime par exemple la présence actuelle du vison d'Amérique à l'est des Pyrénées. Un modèle tenant compte de la distribution structurée du vison d'Amérique (i.e. expansion par les linéaires de rivières ; Václavík *et al.*, 2012) pourrait améliorer la performance prédictive du modèle vison ;
- les zones les plus favorables à la présence du vison d'Amérique sont aussi globalement celles où le desman des Pyrénées a déjà disparu. Ainsi, la présence du vison d'Amérique participerait à diminuer la favorabilité des zones hydrographiques pour le desman des Pyrénées mais de façon moindre au niveau des zones où ce dernier est encore présent. Dans ce contexte, une future expansion du vison d'Amérique dans les zones les plus favorables au desman des Pyrénées (e.g. Ariège, ouest des Pyrénées Orientales, sud de l'Aude) pourrait être une menace importante pour le maintien de l'espèce. Depuis 2013, le vison d'Amérique a par exemple été observé dans la Réserve de Nohèdes dans l'ouest des Pyrénées Orientales (M.O. Durand, FRNC, comm. pers. ; Coulon, 2016) qui est une zone très favorable à la présence du desman des Pyrénées.

7.3. DE NOUVELLES EVIDENCES DE LA PREDATION DU DESMAN DES PYRENEES PAR LA LOUTRE D'EUROPE ET LE VISON D'AMERIQUE

Si l'approche de modélisation statistique utilisée au §7.2 semble suggérer que la présence du vison d'Amérique influence négativement celle du desman des Pyrénées, et pourrait ainsi avoir joué un rôle dans la contraction de son aire de répartition, la nature de l'interaction entre ces deux espèces n'a pas été identifiée. Une étude spécifique est ainsi nécessaire pour mettre en évidence une éventuelle pression de prédation exercée par le vison d'Amérique sur le desman des Pyrénées en France. De plus, même si l'évolution récente de l'aire de distribution de la loutre d'Europe dans les Pyrénées françaises n'a pas pu être mise en regard de celle du desman des Pyrénées dans le paragraphe précédent (*cf.* §7.2), la loutre d'Europe est connue pour être un prédateur, au moins occasionnel, du desman des Pyrénées en Espagne (e.g. Callejo & Delibes, 1987 ; Fernández-López *et al.*, 2014). La mise en place d'un partenariat avec les structures participant au projet LIFE+ en faveur du desman des Pyrénées (LIFE+ Desman, 2013) a permis de s'intéresser pour la première fois à la question de la prédation de l'espèce par ces deux prédateurs semi-aquatiques dans les Pyrénées françaises.

7.3.1. Matériels et méthodes

Des fèces de carnivores semi-aquatiques ont été récoltées de façon opportuniste aux abords immédiats des cours d'eau par des structures partenaires du projet LIFE+ Desman (i.e. ANA, CEN-A, CEN-MP, FAC, FRNC, NMP, ONCFS) entre 2014 et 2016. La zone géographique couverte par ces prospections incluent les six départements des Pyrénées et trois autres départements du nord de la région Occitanie (l'Aveyron, le Tarn et le Tarn-et-Garonne ; Figure 7-11).

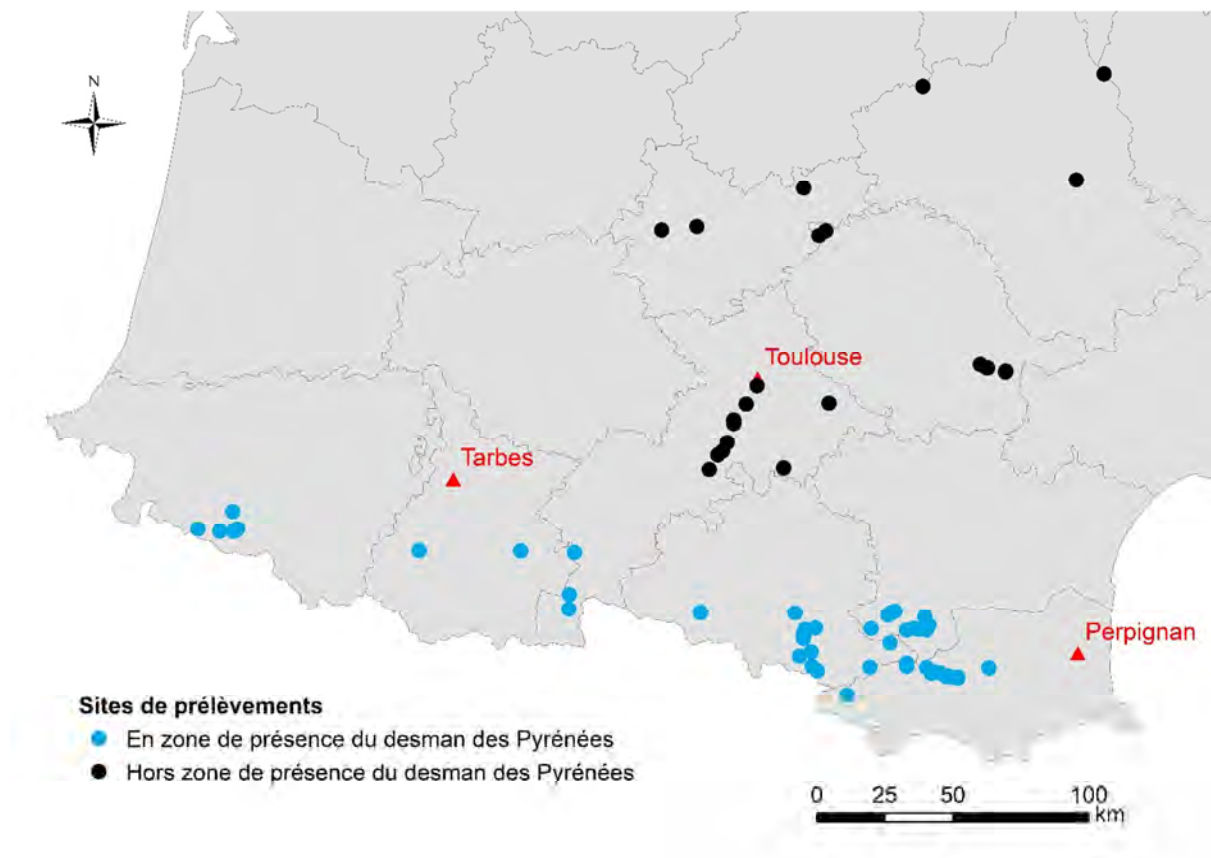


Figure 7-11 : Localisation des sites où ont été collectées les fèces de carnivores semi-aquatiques.

Les fèces récoltées supposées appartenir au vison d'Amérique ou à la loutre d'Europe ont été analysées génétiquement par F. Gillet (laboratoire de génétique de l'Université de Liège) afin de confirmer l'identité des prédateurs ainsi que des proies contenues dans les fèces (cf. chapitre 2, §2.3.3 pour la méthodologie de génétique utilisée).

7.3.2. Résultats

Au total, 178 fèces suspectées d'appartenir à la loutre d'Europe ou au vison d'Amérique ont été récoltées dont la majorité (i.e. 151 fèces) dans l'aire de répartition du desman des Pyrénées.

L'analyse génétique de l'ADN contenu dans ces fèces a permis d'identifier 121 fèces de loutre d'Europe (dont 101 dans la zone de présence du desman des Pyrénées), 9 fèces de vison d'Amérique et 28 fèces d'autres prédateurs (martre *Martes martes*, fouine *Martes foina*, renard *Vulpes vulpes*, putois) mais dont aucune ne contenait de traces de desman des Pyrénées. L'identité des prédateurs n'a pas pu être déterminée pour les 20 fèces restantes (i.e. 11% des fèces collectées).

Afin d'identifier une éventuelle prédation du desman des Pyrénées par la loutre d'Europe ou le vison d'Amérique, seules les fèces de ces espèces collectées au sein de son aire de répartition ont été considérées. Les analyses génétiques ont permis d'identifier une diversité importante de proies pour la loutre d'Europe avec 10 classes (Figure 7-12), 27 ordres, 51 familles et 69 genres de proies (Annexe 1). Le vison d'Amérique semble présenter un régime alimentaire moins diversifié avec 7 classes (Figure 7-12), 10 ordres, 13 familles et 13 genres de proies (Annexe 1). Cependant, ces résultats sont issus de l'étude d'un nombre inférieur de fèces (i.e. seulement 9 fèces) par rapport à la loutre d'Europe et pourrait ne donner qu'une estimation incomplète du régime alimentaire du vison d'Amérique.

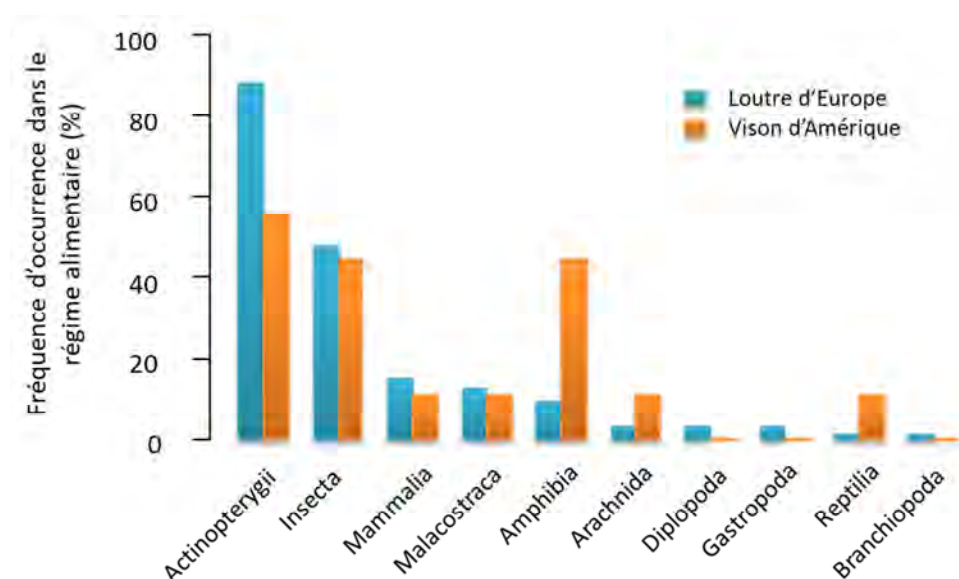


Figure 7-12: Fréquences d'occurrence des classes de proies (i.e. % de fèces contenant la proie) de la loutre d'Europe (bleu) et du vison d'Amérique (orange) identifiées dans respectivement 101 et 9 fèces collectées dans les Pyrénées françaises.

Les proies les plus fréquemment consommées par la loutre d'Europe sont les poissons et les insectes (Figures 7-12 & 7-13). Le vison d'Amérique consomme lui aussi fréquemment des poissons et des insectes, mais également des amphibiens. Il est cependant important de noter qu'il n'est pas possible de déterminer si les insectes présents dans les fèces de ces mammifères sont issus de prédation directe ou indirecte (i.e. proies de proies).

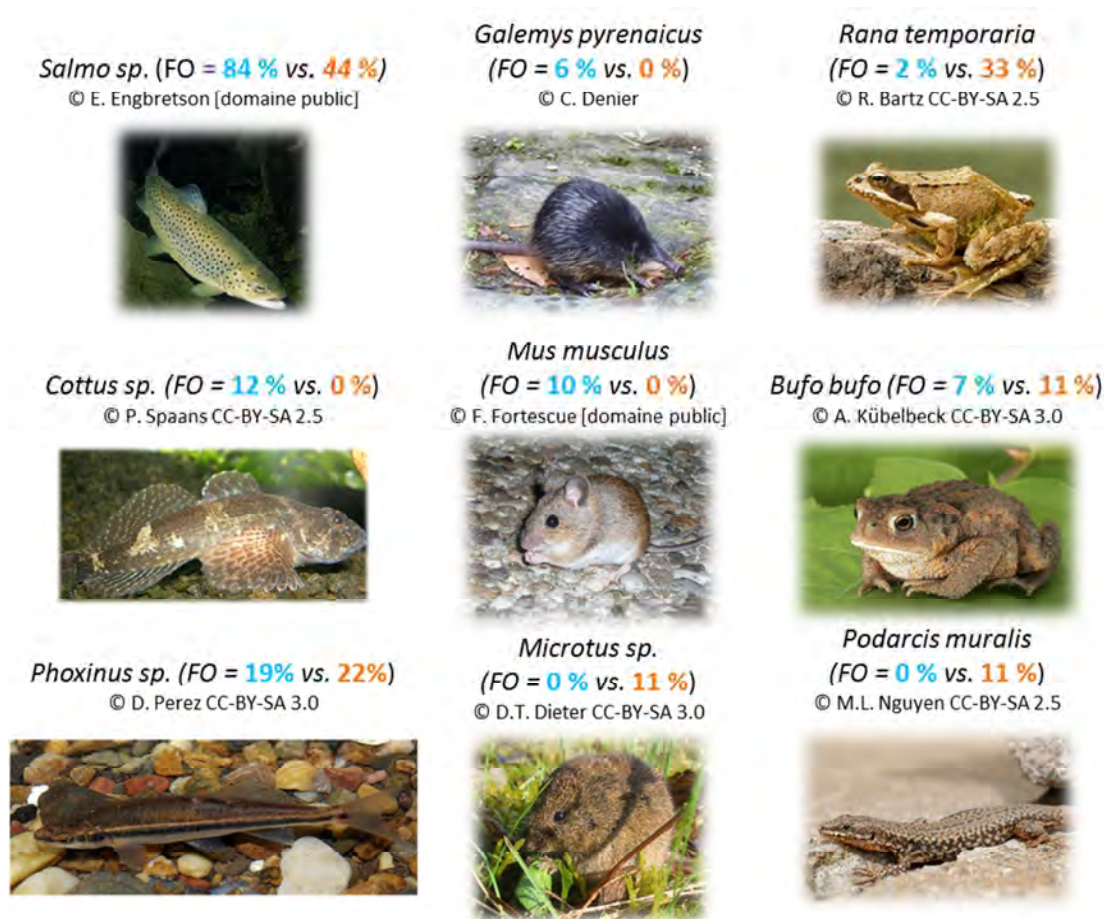


Figure 7-13 : Vertébrés apparaissant dans plus de 5 % des fèces de loutre d'Europe ou de vison d'Amérique. Les fréquences d'occurrence (FO) de ces proies (i.e. proportion de fèces où elles ont été détectées) sont données entre parenthèses, en bleu pour la loutre d'Europe et en orange pour le vison d'Amérique.

Les fèces récoltées dans les Pyrénées françaises indiquent que la loutre d'Europe est le seul prédateur avéré du desman des Pyrénées. Ce dernier est retrouvé dans 6 % des fèces de loutre d'Europe (Figure 7-13). Ces fèces ont été collectées principalement à l'est des Pyrénées où les populations de desman des Pyrénées sont les plus importantes (i.e. Ariège et Aude), mais une épreinte de loutre d'Europe collectée dans les Pyrénées Atlantiques contenait également des restes de desman des Pyrénées (Figure 7-14).

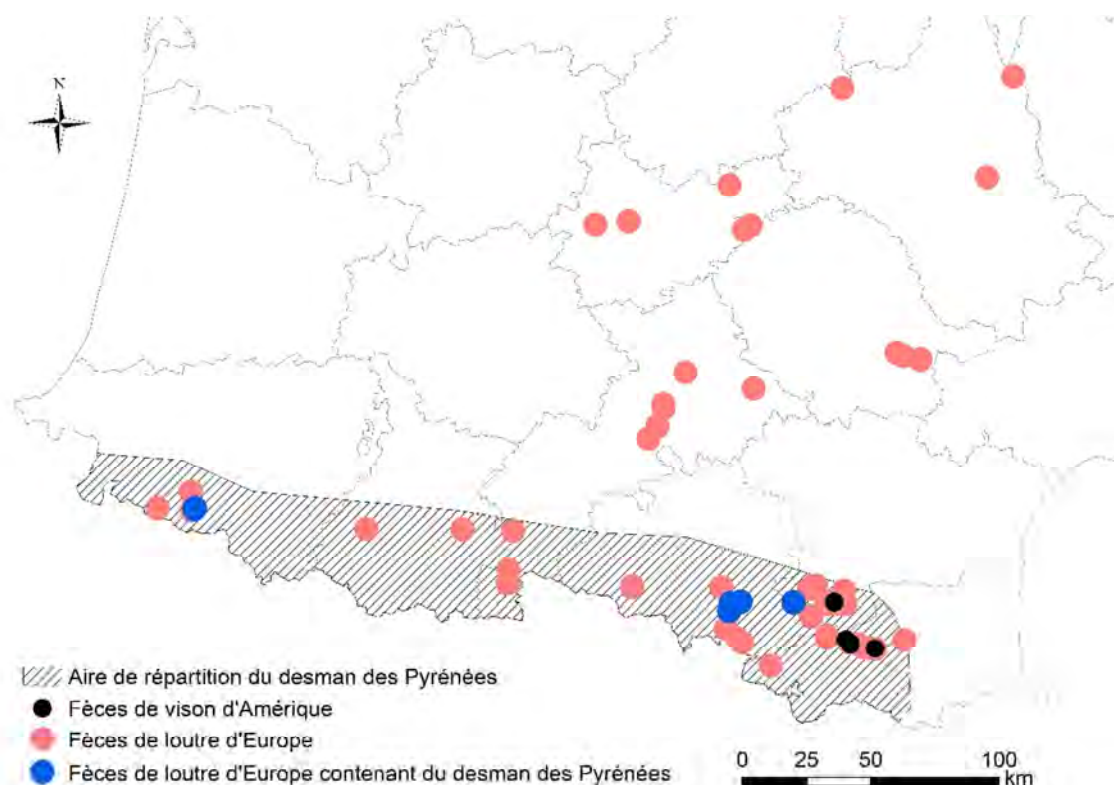


Figure 7-14 : Localisation des fèces de loutre d'Europe et de vison d'Amérique collectées en 2014-2016 et mise en évidence des fèces de loutre d'Europe contenant des restes de desman des Pyrénées.

7.3.3. Discussion

Concordant avec la littérature, les prélèvements de fèces réalisés dans les Pyrénées françaises ont permis de confirmer que la loutre d'Europe et le vison d'Amérique consomment une grande diversité de proies incluant par exemple des invertébrés, poissons, amphibiens, reptiles et également des mammifères (e.g. Bartoszewicz & Zalewski, 2003 ; Clavero *et al.*, 2003 ; Brzeziński, 2008 ; Palazón *et al.*, 2008 ; Krawczyk *et al.*, 2013 ; Reid *et al.*, 2013).

Parmi les mammifères consommés par ces deux prédateurs, le desman des Pyrénées est présent de façon non négligeable dans le régime alimentaire de la loutre d'Europe où il est identifié dans 6 % des fèces collectées dans les Pyrénées. Cette fréquence d'occurrence fait partie de la gamme haute des valeurs connues pour la consommation du desman des Pyrénées par la loutre d'Europe en Espagne (Table 7-1) où il est retrouvé en moyenne dans 3.7 % des fèces analysées.

Aucune fèces collectée de vison d'Amérique ne contenait de traces de desman des Pyrénées. Le faible nombre de fèces analysées pour ce prédateur ne permet cependant pas de conclure sur l'absence de prédation sur le desman des Pyrénées. En effet, les études menées en Espagne suggèrent en moyenne une consommation légèrement plus fréquente de desman des Pyrénées par

le vison d'Amérique que par la loutre d'Europe (Table 7-1 ; Callejo & Delibes, 1987 ; Fernández-López *et al.*, 2014 ; Romero, 2015).

Table 7-1 : Fréquence d'occurrence du desman des Pyrénées dans les régimes alimentaires de la loutre d'Europe et du vison d'Amérique (i.e. % de fèces contenant la proie) en Espagne. Les données en italique sont issues de la revue effectuée par Romero (2015).

Références bibliographiques	Loutre d'Europe		Vison d'Amérique	
	% avec desman des Pyrénées	Nombre total de fèces analysées	% avec desman des Pyrénées	Nombre total de fèces analysées
Romero, 2015	-	-	26.6	94
Fernández-López <i>et al.</i> , 2014	12.5	32		
Callejo & Delibes, 1987	1.4	367	-	-
<i>Callejo, 1985</i>	7.1	1117	-	-
<i>Schmalenberger et al.</i> , 2009	2.9	370	-	-
<i>Romero, 2007</i>	-	-	1.4	418
<i>Romero, 2010a</i>	6.1	66	0	4
<i>Romero, 2010b</i>	1.3	461	1.3	79
<i>Romero, 2011</i>	2.0	201	7.7	13
<i>Romero, 2012</i>	4.8	250	0	18
<i>Romero, 2013</i>	1.8	969	1.9	157
Moyenne pondérée par le nombre de fèces sur toutes les études	3.7 ± 2.6	-	4.6 ± 8.2	-

Les outils de génétique moléculaire utilisés ici ne donnent qu'un résultat qualitatif pour le régime alimentaire des prédateurs (i.e. fréquence d'occurrence dans les fèces). Il est donc impossible d'estimer la part que représente le desman des Pyrénées dans le régime alimentaire de la loutre d'Europe par rapport aux autres proies consommées. Certaines études espagnoles ont pu quantifier cette part dans le régime alimentaire de la loutre d'Europe qui vaut 0.04 % (García *et al.*, 2009b), 0.6 % (Callejo & Delibes, 1987) et 3.0 % en proportion par rapport aux autres proies (Adrián Dossío *et al.*, 1988) selon les cas.

Bien que ces proportions et que les fréquences d'occurrence du desman des Pyrénées dans le régime alimentaire de la loutre d'Europe et du vison d'Amérique restent globalement faibles, l'impact de la prédation sur les populations de ce mammifère pourrait être marqué localement. En effet, la loutre d'Europe et le vison d'Amérique sont considérés comme des prédateurs opportunistes qui ciblent les espèces les plus abondantes dans les milieux qu'ils occupent. Leur régime alimentaire varie

également selon les saisons (e.g. Bartoszewicz & Zalewski, 2003 ; Clavero *et al.*, 2003). Ils sont aussi capables de se tourner vers des proies alternatives lorsque leurs proies préférentielles (i.e. les poissons) sont limitantes. Ainsi, la dégradation des milieux aquatiques qui pourrait se répercuter en premier lieu sur les communautés de poissons, du fait de leur dépendance totale à ces milieux, pourrait pousser ces deux prédateurs à consommer plus de proies terrestres et semi-aquatiques, incluant le desman des Pyrénées, représentant par conséquent une menace supplémentaire pour cette espèce et le maintien de populations viables.

7.4. CONCLUSION

La première partie de cette étude a mis en évidence que l'expansion de l'aire de distribution du vison d'Amérique dans les Pyrénées françaises pourrait avoir joué un rôle dans la contraction de celle du desman des Pyrénées. Ces résultats doivent cependant être considérés avec précaution puisque les modèles statistiques qui expliquent la distribution du desman des Pyrénées sont tous aussi performants, qu'ils prennent en compte ou non la probabilité de présence modélisée du vison d'Amérique. D'autre part, les fèces de carnivores semi-aquatiques prélevées dans les Pyrénées françaises n'ont pas permis de mettre en évidence une prédation du vison d'Amérique sur le desman des Pyrénées. L'existence de cette pression en France ne peut cependant pas être exclue puisque le nombre de fèces analysées pour l'espèce était limité (i.e. seulement 9 fèces) et que la prédation sur le desman des Pyrénées est avérée en Espagne (Romero, 2015). Au regard de l'ensemble de ces résultats et des connaissances disponibles actuellement, l'impact négatif du vison d'Amérique sur le desman des Pyrénées ne peut donc pas être ignoré, surtout en considérant les menaces qu'il pose de façon plus générale sur les populations d'autres espèces natives (e.g. Bonesi & Palazón, 2007).

Bien que l'influence de la recolonisation des rivières pyrénéennes par la loutre d'Europe sur le déclin du desman des Pyrénées en France n'ait pas pu être étudiée ici, son statut de prédateur pourrait suggérer qu'elle y participe. En effet, la loutre d'Europe consomme du desman des Pyrénées dans des proportions qui ne sont pas négligeables (i.e. 6% des fèces collectées dans les Pyrénées françaises). Ce prédateur est aussi connu pour exercer une pression de prédation pouvant être localement très forte sur les espèces aquatiques et semi-aquatiques (e.g. Parry *et al.*, 2015). Cette pression pourrait venir s'additionner localement à d'autres pressions déjà exercées sur le desman des Pyrénées, comme la dégradation de ses habitats, et pourrait ainsi représenter une menace supplémentaire pour le maintien de ses populations.

Annexe 1 : Taxons identifiés comme proies de la loutre d'Europe et du vison d'Amérique par l'analyse génétique de 101 et 9 fèces respectivement, collectées dans les Pyrénées françaises. Les taxons sont classés par fréquences d'occurrence décroissantes dans le régime alimentaire de la loutre d'Europe. La fréquence d'occurrence de chaque taxon dans le régime alimentaire des deux carnivores correspond au pourcentage de fèces du prédateur contenant le taxon.

Classes	Fréquence d'occurrence dans le régime alimentaire (%)		Ordres	Fréquence d'occurrence dans le régime alimentaire (%)		Familles	Fréquence d'occurrence dans le régime alimentaire (%)		Genres	Fréquence d'occurrence dans le régime alimentaire (%)	
	Loutre d'Europe	Vison d'Amérique		Loutre d'Europe	Vison d'Amérique		Loutre d'Europe	Vison d'Amérique		Loutre d'Europe	Vison d'Amérique
Actinopterygii	88,12	55,56	Salmoniformes	85,15	44,44	Salmonidae	85,15	44,44	<i>Salmo</i>	84,16	44,44
									<i>Oncorhynchus</i>	3,96	0,00
									<i>Salvelinus</i>	0,99	0,00
			Cypriniformes	24,75	22,22	Cyprinidae	24,75	22,22	<i>Phoxinus</i>	18,81	22,22
									<i>Gobio</i>	3,96	0,00
									<i>Rutilus</i>	0,99	0,00
									<i>Alburnus</i>	0,99	0,00
									<i>Barbus</i>	0,99	0,00
						Nemacheilidae	1,98	0,00	<i>Barbatula</i>	1,98	0,00
			Scorpaeniformes	11,88	0,00	Cottidae	11,88	0,00	<i>Cottus</i>	11,88	0,00
			Anguilliformes	1,98	0,00	Anguillidae	1,98	0,00	<i>Anguilla</i>	1,98	0,00
			Perciformes	1,98	0,00	Percidae	1,98	0,00	<i>Perca</i>	1,98	0,00
									<i>Gymnocephalus</i>	0,99	0,00
Insecta	47,52	44,44	Ephemeroptera	22,77	0,00	Baetidae	14,85	0,00	<i>Baetis</i>	14,85	0,00
						Heptageniidae	10,89	0,00	<i>Rhithrogena</i>	10,89	0,00
						Ephemeridae	1,98	0,00	<i>Ephemera</i>	1,98	0,00
			Diptera	16,83	22,22	Simuliidae	6,93	0,00	<i>Simulium</i>	6,93	0,00
						Chironomidae	6,93	0,00	<i>Orthocladius</i>	1,98	0,00
									<i>Thienemannia</i>	1,98	0,00
									<i>Thienemannimyia</i>	0,99	0,00
									<i>Polypedilum</i>	0,99	0,00
									<i>Tvetenia</i>	0,99	0,00
						Muscidae	2,97	0,00	<i>Polietes</i>	1,98	0,00
									<i>Helina</i>	0,99	0,00
						Psychodidae	1,98	0,00	<i>Psychoda</i>	1,98	0,00
						Tabanidae	1,98	0,00	<i>Tabanus</i>	0,99	0,00
									<i>Hybomitra</i>	0,99	0,00
						Tipulidae	0,99	0,00	<i>Tipula</i>	0,99	0,00
						Sciaridae	0,99	0,00	<i>Phytosciara</i>	0,99	0,00
						Calliphoridae	0,00	11,11	<i>Calliphora</i>	0,00	11,11
						Anthomyiidae	0,00	11,11	<i>Hylemya</i>	0,00	11,11
			Plecoptera	15,84	0,00	Perlidae	6,93	0,00	<i>Perla</i>	5,94	0,00
						Nemouridae	5,94	0,00	<i>Dinocras</i>	0,99	0,00
									<i>Protonemura</i>	5,94	0,00
						Leuctridae	2,97	0,00	<i>Leuctra</i>	2,97	0,00
						Perlodidae	0,99	0,00	<i>Isoperla</i>	0,99	0,00

Classes	Fréquence d'occurrence dans le régime alimentaire (%)		Ordres	Fréquence d'occurrence dans le régime alimentaire (%)		Familles	Fréquence d'occurrence dans le régime alimentaire (%)		Genres	Fréquence d'occurrence dans le régime alimentaire (%)	
	Loutre d'Europe	Vison d'Amérique		Loutre d'Europe	Vison d'Amérique		Loutre d'Europe	Vison d'Amérique		Loutre d'Europe	Vison d'Amérique
Insecta	47,52	44,44	Trichoptera	11,88	0,00	Hydropsychidae	9,90	0,00	<i>Hydropsyche</i>	9,90	0,00
						Odontoceridae	1,98	0,00	<i>Odontocerum</i>	1,98	0,00
						Sericostomatidae	0,99	0,00	<i>Sericostoma</i>	0,99	0,00
						Philopotamidae	0,99	0,00	<i>Philopotamus</i>	0,99	0,00
			Odonata	2,97	0,00	Gomphidae	2,97	0,00	<i>Gomphus</i>	2,97	0,00
			Coleoptera	2,97	22,22	Cerambycidae	1,98	11,11	<i>Leptura</i>	0,99	0,00
									<i>Iberodorcadion</i>	0,99	11,11
						Scirtidae	0,99	0,00	<i>Elodes</i>	0,99	0,00
						Silphidae	0,00	11,11	<i>Nicrophorus</i>	0,00	11,11
			Hymenoptera	1,98	0,00	Formicidae	1,98	0,00	<i>Temnothorax</i>	0,99	0,00
					<i>Myrmica</i>				0,99	0,00	
			Orthoptera	0,99	0,00	Acrididae	0,99	0,00	<i>Chorthippus</i>	0,99	0,00
			Collembola	0,99	0,00	Isotomidae	0,99	0,00	<i>Isotomurus</i>	0,99	0,00
Megaloptera	0,00	11,11	Sialidae	0,00	11,11	<i>Sialis</i>	0,00	11,11			
Mammalia	14,85	11,11	Rodentia	9,90	11,11	Muridae	9,90	0,00	<i>Mus</i>	9,90	0,00
									<i>Rattus</i>	0,99	0,00
						Cricetidae	0,00	11,11	<i>Microtus</i>	0,00	11,11
			Soricomorpha	7,92	0,00	Talpidae	5,94	0,00	<i>Galemys</i>	5,94	0,00
						Soricidae	1,98	0,00	<i>Crocidura</i>	1,98	0,00
Malacostraca	12,87	11,11	Isopoda	5,94	0,00	Philosciidae	2,97	0,00	<i>Philoscia</i>	2,97	0,00
						Trichoniscidae	1,98	0,00	<i>Hyloniscus</i>	0,99	0,00
									<i>Trichoniscus</i>	0,99	0,00
									<i>Armadillidium</i>	0,99	0,00
			Porcellionidae	0,99	0,00	<i>Porcellio</i>	0,99	0,00			
			Amphipoda	3,96	11,11	Gammaridae	3,96	11,11	<i>Gammarus</i>	3,96	11,11
			Decapoda	3,96	0,00	Cambaridae	2,97	0,00	<i>Orconectes</i>	2,97	0,00
						Astacidae	0,99	0,00	<i>Austropotamobius</i>	0,99	0,00
Amphibia	8,91	44,44	Anura	8,91	44,44	Bufonidae	6,93	11,11	<i>Bufo</i>	6,93	11,11
						Ranidae	1,98	33,33	<i>Rana</i>	1,98	33,33
Arachnida	2,97	11,11	Araneae	2,97	0,00	Clubionidae	1,98	0,00	<i>Clubiona</i>	1,98	0,00
						Amaurobiidae	0,99	0,00	<i>Amaurobius</i>	0,99	0,00
			Ixodida	0,00	11,11	Amblyommidae	0,00	11,11	<i>Dermacentor</i>	0,00	11,11
Diplopoda	2,97	0,00	Glomerida	1,98	0,00	Glomeridae	1,98	0,00	<i>Glomeris</i>	1,98	0,00
			Julida	0,99	0,00	Julidae	0,99	0,00	<i>Ommatoiulus</i>	0,99	0,00
Gastropoda	2,97	0,00	Stylommatophora	1,98	0,00	Helicidae	0,99	0,00	<i>Helix</i>	0,99	0,00
						Hygromiidae	0,99	0,00	<i>Hygromia</i>	0,99	0,00
			Hygrophila	0,99	0,00	Lymnaeidae	0,99	0,00	<i>Radix</i>	0,99	0,00
Reptilia	0,99	11,11	Squamata	0,99	11,11	Lacertidae	0,99	11,11	<i>Podarcis</i>	0,00	11,11
									<i>Zootoca</i>	0,99	0,00
Branchiopoda	0,99	0,00	Diplostraca	0,99	0,00	Chydoridae	0,99	0,00	<i>Chydorus</i>	0,99	0,00

CHAPITRE 8.

Discussion générale et perspectives

Dans le contexte général d'érosion de la biodiversité (Ceballos *et al.*, 2015), le déclin du desman des Pyrénées suscite depuis plusieurs années une attention toute particulière des quatre pays où l'espèce est établie (e.g. en Espagne : projet LIFE11 NAT/ES/000691 2012-2017 ; au Portugal : projet LIFE94 NAT/P/004842 1994-1996). En France, cette espèce patrimoniale fait actuellement l'objet d'un suivi rapproché qui a commencé dans le cadre du PNAD de 2010 à 2015 (Némoz & Bertrand, 2008) et qui se poursuit dans le cadre du projet LIFE+ Desman depuis 2014 et jusqu'à 2019 (LIFE+ Desman, 2013). La collaboration entre le CEN Midi-Pyrénées, porteur de ces deux projets, et le laboratoire EcoLab a initié les travaux de thèse d'Anaïs Charbonnel (Charbonnel, 2015). Cette précédente étude s'est intéressée à l'influence de facteurs abiotiques sur la distribution du desman des Pyrénées, à différentes échelles spatiales, dans les Pyrénées françaises. Le travail que j'ai décrit dans ce manuscrit visait à poursuivre ces premiers travaux en complétant les connaissances sur les facteurs à la fois abiotiques et biotiques qui pourraient influencer la distribution de l'espèce à l'échelle locale du tronçon de rivière afin d'apporter des pistes pour la mise en place de mesures de gestion appropriées. Les nouveaux résultats apportés par ce travail et qui seront discutés dans ce chapitre concernent :

- l'influence de facteurs abiotiques tels que la chimie de l'eau ou les activités anthropiques qui impactent le lit mineur (Chapitre 3) ;
- les interactions biotiques du desman des Pyrénées avec d'autres organismes aquatiques dont (i) ses proies par le biais de l'étude de son régime alimentaire (Chapitres 4, 5, 6), (ii) deux compétiteurs potentiels, la crossope aquatique (Chapitres 3, 5, 6) et le cingle plongeur (Chapitre 3), et (iii) deux espèces de mammifères potentiellement prédateurs (Chapitre 7).

8.1. LES NOUVEAUX FACTEURS ABIOTIQUES A PRENDRE EN COMPTE POUR LA GESTION DU DESMAN DES PYRENEES

8.1.1. Les pressions anthropiques exercées sur le lit mineur

Jusqu'à présent, l'influence sur le desman des Pyrénées des activités anthropiques qui impactent directement le lit mineur n'avait été étudiée que par le biais de facteurs indirects comme la distance aux routes ou aux grandes villes les plus proches (Barbosa *et al.*, 2009 ; Williams-Tripp *et al.*, 2012), la proportion de zones urbanisées ou agricoles présentes dans le lit majeur (Biffi *et al.*, 2016 ; Charbonnel *et al.*, 2016), la densité d'obstacles à l'écoulement en amont ou la densité de population

humaine autour des cours d'eau (Charbonnel *et al.*, 2016). Alors que l'influence des activités anthropiques mesurées indirectement était plutôt contrastée dans les études précédemment citées, ces pressions anthropiques ont un impact significativement négatif sur le desman des Pyrénées lorsqu'elles sont exercées localement et directement sur le lit mineur. Ce résultat confirme que l'intégrité du lit mineur est un facteur important pour la présence et le maintien des populations de desman des Pyrénées. Ces observations sont concordantes avec les conclusions de Peyre (1956), Castién & Gosálbez (1992), Santamarina (1992) et Biffi *et al.* (2016) qui suggèrent que la tolérance du desman des Pyrénées aux perturbations d'origine anthropique, notamment celles qui affectent le lit majeur des cours d'eau, est directement dépendante du maintien de conditions favorables dans le lit mineur et sur les berges. Cette tolérance du desman des Pyrénées aux perturbations n'affectant pas directement le cours d'eau a été mise en évidence chez d'autres mammifères semi-aquatiques. Par exemple, le campagnol *Arvicola terrestris* est capable de s'accommoder d'altérations modérées de la structure des berges tant qu'il peut y trouver des abris et gîtes favorables (Barreto *et al.*, 1998). Le limnogale *Limnogale mergulus*, un mammifère semi-aquatique endémique de Madagascar, peut quant à lui se maintenir dans des bassins versants subissant la déforestation, dans la mesure où l'abondance et la diversité des communautés d'invertébrés aquatiques dont il se nourrit ne sont pas réduites par le colmatage du lit mineur qui en résulte (Benstead *et al.*, 2001).

Les pressions anthropiques locales étudiées ici incluent la pêche amateur, la baignade, les points d'accès à l'eau pour les troupeaux, les rejets d'eaux usées (e.g. provenant directement d'habitations ou de stations d'épuration) et les systèmes de captage de l'eau (e.g. irrigation des cultures et jardins, eau potable).

Le piétinement par l'homme ou par les animaux d'élevage est une source importante de perturbations des communautés aquatiques et notamment des macroinvertébrés benthiques. Hardiman & Burgin (2011) et Escarpinati *et al.* (2014) ont observé une diminution immédiate de la richesse et de l'abondance des macroinvertébrés aquatiques ainsi qu'une augmentation de la dérive des invertébrés et de la matière organique, en réponse au piétinement dans des zones de baignade fortement fréquentées ou résultant du canyoning. L'action des troupeaux qui pâturent à proximité des cours d'eau et bénéficient d'un accès direct au lit mineur est également problématique puisqu'elle cause une érosion des berges et un apport sédimentaire important qui tend à augmenter le colmatage des substrats du lit mineur (Evans *et al.*, 2006). Les déjections des troupeaux sont également à l'origine de la dégradation de la qualité de l'eau puisqu'elles apportent un excès de matières organiques mais aussi des pathogènes et des résidus de traitements médicamenteux (e.g. Hooda *et al.*, 2000 ; Mesa *et al.*, 2017).

La technique de prospection utilisée pour détecter la présence du desman des Pyrénées (i.e. recherche de fèces à pied en remontant le lit mineur des cours d'eau) est certainement une autre source de perturbations du lit mineur dont l'impact négatif sur l'espèce pourrait être substantiel dans le cas de prospections répétées (e.g. suivis temporels rapprochés). Cette méthode est pourtant la plus simple et la plus efficace en comparaison des faibles taux de capture du desman des Pyrénées obtenus en France par des engins de pêche passifs (M. Némot, F. Blanc, CEN-MP ; V. Lacaze, ANA, comm. pers. ; Lim, 2015). Un compromis entre le suivi du desman des Pyrénées, qui est nécessaire pour la conservation de l'espèce, et les conséquences négatives potentielles de ce suivi pourrait être trouvé par le développement de nouvelles techniques de prospection non-invasives pour le milieu. Par exemple, l'analyse génétique de l'ADN environnemental pour détecter les espèces aquatiques à partir de prélèvements d'eau est de plus en plus utilisée (e.g. Rees *et al.*, 2014). Les probabilités de détection des espèces par cette méthode sont cependant directement dépendantes du taxon étudié, de la densité de l'espèce et de la masse d'eau (e.g. lac, rivière ; Rees *et al.*, 2014). Par exemple, la loutre d'Europe, du fait de ses mœurs semi-aquatiques et de la grande taille de son domaine vital, est moins détectable par cette méthode que des espèces d'amphibiens (Thomsen *et al.*, 2012). L'efficacité de détection du desman des Pyrénées pourrait ainsi être limitée pour le desman des Pyrénées.

Les captages pour l'irrigation des cultures, les sports d'hiver ou l'utilisation domestique de l'eau induisent une diminution des débits qui peut réduire les vitesses de courant (notamment en période d'étiage sévère comme lors des canicules), la hauteur d'eau et la surface mouillée du lit mineur. Cette diminution des débits peut aussi provoquer une augmentation de la sédimentation (i.e. par l'accroissement du dépôt de sédiments fins), un réchauffement de l'eau et une dégradation de sa qualité chimique (Dewson *et al.*, 2007a). Ainsi, cette pression peut potentiellement allonger les périodes d'étiage et causer des assecs locaux, altérant directement la qualité de l'habitat et notamment la disponibilité en nourriture pour les macroinvertébrés aquatiques (Dewson *et al.*, 2007a). Face au manque de connaissances sur les déplacements du desman des Pyrénées en milieu terrestre, l'assèchement des cours d'eau est considéré par l'IUCN comme une barrière physique potentielle à sa dispersion (Fernandes *et al.*, 2008).

Il est important de signaler que d'autres pressions anthropiques qui s'exercent fréquemment sur les cours d'eau n'ont pas été observées sur les sites échantillonnés dans cette étude. Pourtant, les activités de loisirs aquatiques telles que le canyoning (Hardiman & Burgin, 2011) ou la randonnée aquatique ainsi que les gués ont vraisemblablement un impact non négligeable sur le lit mineur et les organismes qui l'occupent. Les aménagements hydrauliques (e.g. barrages, seuils, prises d'eau) altèrent également le lit mineur, les débits, les faciès d'écoulement mais aussi la continuité

écologique des rivières et les communautés aquatiques (e.g. Baran *et al.*, 1995 ; Gehrke *et al.*, 2002 ; Martínez *et al.*, 2013 ; Pedroso *et al.*, 2014 ; Benejam *et al.*, 2016). Ces aménagements sont des facteurs bien connus dans le déclin des communautés de poissons des rivières du fait de la fragmentation et de l'isolement des populations qu'ils engendrent (Aparicio *et al.*, 2000). Mais qu'en est-il concrètement pour le desman des Pyrénées qui peut potentiellement contourner ces ouvrages par les berges et le lit majeur ? Ces aménagements hydrauliques devraient faire l'objet de nouvelles explorations quant à leur influence sur le desman des Pyrénées, afin de pouvoir *a minima* mettre en place des mesures d'atténuation (e.g. débit minimum à déterminer, conséquences de lâchers d'eau et de curage de barrages). Gillet *et al.* (2016) ont par exemple suggéré que les déplacements d'individus de desman des Pyrénées vers l'amont sur de longues distances (jusqu'à 17,8 km plus en amont après un an de suivi) pouvaient résulter d'une dégradation de ses habitats en aval sur la rivière Aude due aux activités hydroélectriques. En effet, les travaux de rénovation du complexe hydroélectrique de Nentilla, qui ont duré trois ans, ont causé d'importantes modifications des régimes hydrauliques de la rivière avec une altération de la structure du lit mineur (notamment du substrat) et des berges sur plusieurs kilomètres dans le tronçon court-circuité (B. Le Roux, FAC, comm. pers.). Ces travaux ont eu pour conséquence une raréfaction du desman des Pyrénées dans le tronçon court-circuité qui aurait ainsi pu chercher à rejoindre des habitats plus favorables et non-impactés en amont des travaux (Gillet *et al.*, 2016).

Le maintien ou la restauration de conditions favorables du lit mineur des rivières semble donc l'un des principaux leviers d'action pour maintenir la présence du desman des Pyrénées dans les cours d'eau pyrénéens. Ces conditions favorables se traduisent par la garantie d'une forte diversité d'habitats, tant en termes de vitesse de courant que de substrat, avec néanmoins des cours d'eau dominés par des courants rapides et des substrats grossiers (chapitre 4 ; Charbonnel *et al.*, 2015 ; Biffi *et al.*, 2016) qui favorisent la présence de communautés d'invertébrés abondantes et diversifiées (Orth & Maughan, 1983 ; Dewson *et al.*, 2007b ; Reid *et al.*, 2010 ; Hussain & Pandit, 2012). Des actions en ce sens sont menées dans le cadre du projet LIFE+ Desman (M. Némóz, CEN-MP, comm. pers.) afin d'améliorer les potentialités d'accueil du lit mineur et des berges, dans des tronçons de rivières rendus homogènes et pauvres en termes d'habitats et de ressources trophiques favorables à l'espèce (e.g. tronçons court-circuités par les aménagements hydrauliques). Par exemple, en 2016 la mise en place d'enchevêtrements de blocs sur l'Hers vif (Ariège), de micro-seuils et d'un épi déflecteur a permis de créer des zones de caches (i.e. contre les prédateurs, pour le repos et le dépôt de fèces) et de diversifier les faciès d'écoulement du cours d'eau pour favoriser la présence d'habitats de chasse favorables au desman des Pyrénées (Figure 8-1 ; Levenard *et al.*, 2017). Bien que des suivis de ces actions pilotes devront être effectués afin d'évaluer leur efficacité sur le desman des

Pyrénées, ces méthodes ont déjà fait leurs preuves pour l'amélioration des habitats aquatiques pour les truites (e.g. Baglinière & Maisse, 1991 ; Roussel & Bardonnnet, 2002). Le CEN-MP prévoit également de rendre opérationnelles des zones refuges sur un cours d'eau soumis à de fortes variations artificielles dues aux activités hydroélectriques (Aston, Ariège ; M. Némot, CEN-MP, comm. pers.). Une zone sera défrichée pour reconnecter un petit affluent et lui rendre son rôle de zone échappatoire en cas de fort débit dans le cours d'eau principal. Un affluent bétonné et un petit canal seront également diversifiés en termes d'habitats disponibles, comme cela a été fait sur l'Hers vif, afin de les rendre favorables à la présence du desman des Pyrénées.

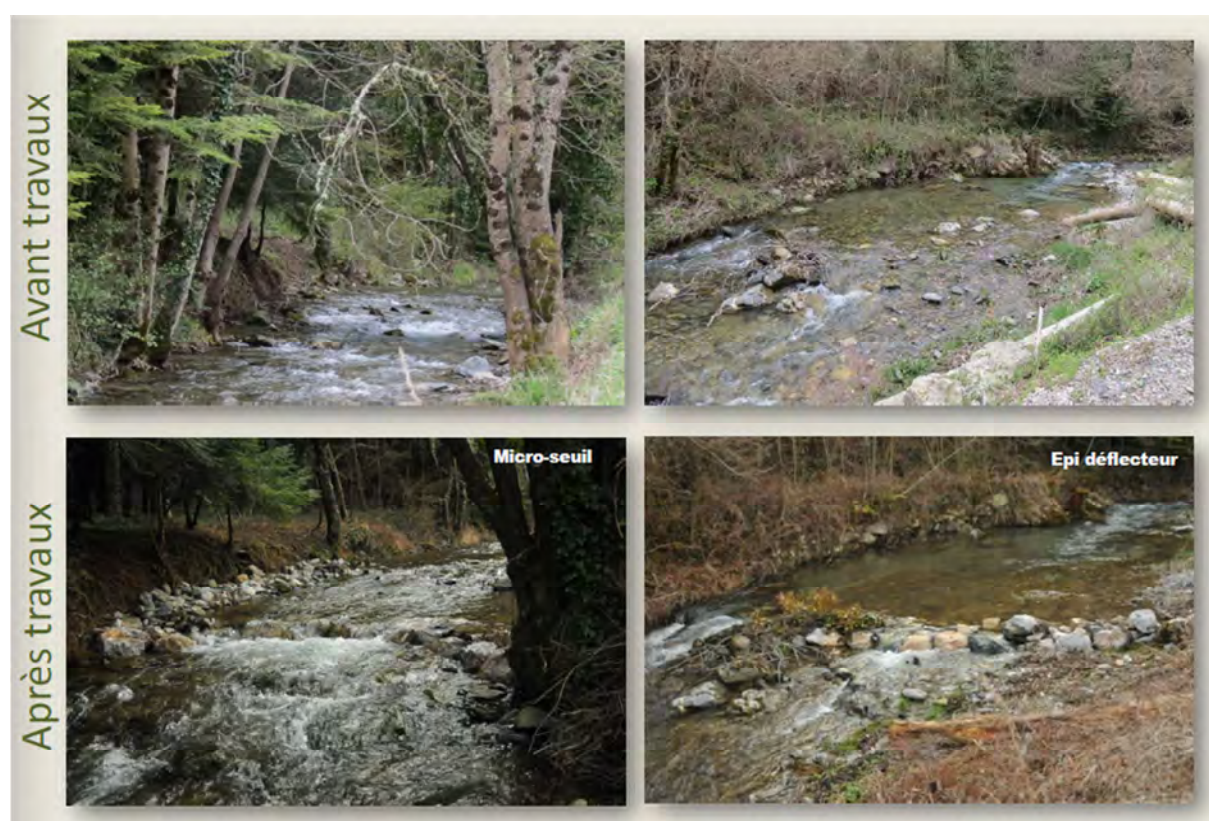


Figure 8-1: Exemple d'actions mises en place afin d'améliorer les potentialités d'accueil d'un cours d'eau ariégeois pour le desman des Pyrénées et ses proies (d'après Levenard et al., 2017). La pose d'un seuil et d'un épi déflecteur a permis de diversifier les faciès d'écoulement des tronçons de rivières aménagés.

De manière générale, les usages anthropiques des cours d'eau favorables au desman des Pyrénées doivent être limités notamment dans les zones à enjeu telles que :

- les zones de forte présence du desman des Pyrénées afin d'assurer le maintien des populations existantes qui peuvent jouer le rôle de populations sources ;
- et les zones où les populations montrent des signes de déclin ou ont récemment disparu mais où des populations abondantes sont connues à proximité, afin de favoriser une

recolonisation naturelle. Le desman des Pyrénées a, par exemple, recolonisé le tronçon court-circuité de la rivière Aude après les travaux du complexe hydroélectrique de Nentilla au terme de quelques années (B. Le Roux, FAC, comm. pers.).

8.1.2. La qualité chimique de l'eau

La qualité chimique de l'eau est un autre facteur connu pour influencer de façon significative la présence et le maintien des communautés aquatiques dans les cours d'eau (e.g. Camargo & Alonso, 2006 ; Allan & Castillo, 2007 ; Cheng *et al.*, 2016 ; Pallottini *et al.*, 2017). Les résultats de cette étude ont mis en évidence :

- une influence négative sur le desman des Pyrénées de la concentration en ions ammonium pourtant présents en faible quantité dans les cours d'eau ariégeois échantillonnés ;
- un optimum de présence de l'espèce pour des valeurs de conductivité plutôt faibles ;
- la préférence du desman des Pyrénées pour des proies ayant des affinités pour les eaux peu polluées.

L'influence de la chimie de l'eau sur le desman des Pyrénées n'avait encore jamais été directement testée mais ces résultats suggèrent que l'espèce semble sensible à la chimie des cours d'eau dans lesquels il évolue pour se nourrir et se déplacer. Néanmoins, il est important de noter que seuls quelques ions ont été étudiés dans cette thèse (chapitre 3) et ce, dans des cours d'eau qui sont globalement favorables à l'espèce. En effet, le département de l'Ariège est l'une des zones des Pyrénées françaises où la présence du desman des Pyrénées est la plus importante (Charbonnel *et al.*, 2015, 2016). Dans les cours d'eau échantillonnés, les valeurs des concentrations ioniques sont homogènes mises à part quelques valeurs extrêmes (Annexe A1) et pourraient ainsi masquer une réponse bien plus importante du desman des Pyrénées à la qualité chimique de l'eau. D'autres paramètres permettant de caractériser la qualité chimique de l'eau, comme la concentration en oxygène dissous, n'ont d'ailleurs pas été retenus pour les analyses, bien qu'ils aient été mesurés durant la campagne d'échantillonnage, car ils étaient trop peu variables entre les sites pour détecter une réponse potentielle du desman des Pyrénées (Annexe A1). Ainsi, il serait pertinent d'explorer la relation entre chimie de l'eau et présence de l'espèce à des échelles spatiales plus larges (e.g. région hydrographique, Pyrénées françaises) afin de décrire un gradient de qualité chimique de l'eau plus étendu et d'essayer d'expliquer l'absence du desman des Pyrénées de certains bassins versants (e.g.

zone ouest des Pyrénées, haut-bassin de la Garonne) qui pourrait peut-être être due à la qualité physico-chimique et aux pollutions des cours d'eau.

Bien qu'aucune pollution chimique n'ait été mise en évidence dans les cours d'eau prospectés dans cette étude, ces résultats suggèrent que le desman des Pyrénées pourrait y être sensible. Il existe en effet une littérature abondante mettant en évidence un lien fort entre la pollution issue de rejets anthropiques urbains (e.g. eaux usées, médicaments), agricoles (e.g. pesticides) ou industriels (e.g. métaux) et la dégradation des habitats et des communautés aquatiques (e.g. Berenzen *et al.*, 2001 ; Johnson *et al.*, 2013 ; Kibichii *et al.*, 2015 ; Schinegger *et al.*, 2016). Pour le desman des Pyrénées, l'état actuel des connaissances ne permet pas de connaître avec certitude la façon dont la pollution chimique pourrait affecter l'espèce, depuis les impacts sur l'ADN à ceux sur la dynamique des populations. Des études récentes ont montré expérimentalement des impacts importants de cocktails de pesticides à des doses observées dans l'environnement sur le carassin *Carassius auratus*, poisson extrêmement tolérant, à différentes échelles de l'organisme mais aussi sur son comportement (Gandar *et al.*, 2016, 2017). Il est aussi connu que des molécules médicamenteuses qui subsistent dans les effluents de stations d'épuration, sont capables de causer des pathologies hépatiques, rénales et branchiales (e.g. anti-inflammatoire Diclofénac : Schwaiger *et al.*, 2004) et de perturber les cycles de reproduction (e.g. œstrogènes contraceptifs de synthèse : Kidd *et al.*, 2007) chez d'autres poissons. L'accumulation de polluants dans les tissus est donc probablement une menace pour le desman des Pyrénées comme cela a été montré pour d'autres mammifères semi-aquatiques (e.g. loutres *Lontra canadensis*, *L. lutra* et castors *Castor canadensis*, *C. fiber* ; Peterson & Schulte, 2016).

Les effets des pollutions chimiques peuvent aussi être indirects. En effet, leur influence sur les invertébrés aquatiques que le desman des Pyrénées consomme, notamment les Ephéméroptères, Plécoptères et Trichoptères qui sont communément utilisés comme indicateurs de la qualité de l'eau (e.g. Usseglio-Polatera *et al.*, 2000b ; Kibichii *et al.*, 2015), est connue et avait déjà été mentionnée (e.g. Santamarina & Guitian, 1988 ; Bertrand, 1994).

La restauration de l'état chimique des cours d'eau pollués par les activités humaines semble donc être une mesure de gestion à ne pas négliger pour le desman des Pyrénées. Néanmoins, une telle mesure de gestion ne pourra être envisagée sans avoir préalablement défini les seuils de toxicité des molécules (i.e. *toxic units* ; Ginebreda *et al.*, 2014) dont l'enrichissement est d'origine anthropique (e.g. ions, molécules phytosanitaires, métaux lourds). Bien que connus chez d'autres organismes aquatiques (e.g. poissons ; Sprague & Ramsay, 1965 ; Duan *et al.*, 2008), ces seuils de toxicité sont spécifiques et devront être déterminés précisément pour le desman des Pyrénées. Néanmoins, de

telles études nécessiteraient la capture et l'exposition d'individus de cette espèce protégée ou d'espèces proches à des concentrations toxiques potentiellement létales et sont donc éthiquement questionnables.

8.2. UN REGIME ALIMENTAIRE PLUTOT GENERALISTE MAIS AVEC UNE PREFERENCE POUR CERTAINS HABITATS DE CHASSE

Les changements globaux sont à l'origine de perturbations des réseaux trophiques (e.g. Tylianakis *et al.*, 2008 ; Perkins *et al.*, 2010) qui se répercutent directement sur la distribution et la survie des espèces proies et prédateurs. Par exemple, 50 % des proies de grands carnivores sont actuellement considérées en déclin du fait de la modification de leurs habitats, ce qui est une menace directe pour le maintien des populations prédatrices (Wolf & Ripple, 2016). Dans les milieux aquatiques, les changements climatiques (e.g. augmentation des températures, modifications de la pluviométrie et par conséquent des régimes hydrauliques) modifient l'abondance des espèces et les patrons de dominance, altérant ainsi les chaînes trophiques et les flux d'énergie vers les niveaux trophiques supérieurs (Perkins *et al.*, 2010) mais également les interactions biotiques au sein des communautés (e.g. compétition, prédateurs-proies ; Hannah *et al.*, 2007). Ainsi, la compréhension fine des interactions, notamment trophiques, est importante pour envisager une gestion durable des espèces menacées.

Les avancées récentes dans les méthodes moléculaires non-invasives utilisées pour ce travail de thèse ont permis de remettre en question les conclusions des précédentes études sur le régime alimentaire du desman des Pyrénées. En effet, ces dernières le décrivaient comme un spécialiste des invertébrés benthiques des cours d'eau et principalement des Plécoptères, Ephéméroptères, Trichoptères (EPT) et Diptères (e.g. Santamarina & Guitian, 1988 ; Santamarina, 1993 ; Bertrand, 1994 ; Castién & Gosálbez, 1995). Les fragments d'ADN mitochondriaux contenus dans les fèces de desman des Pyrénées ont permis de mettre en évidence un comportement alimentaire plus généraliste. Le régime alimentaire du desman des Pyrénées est en effet constitué d'une grande diversité de proies (i.e. plus d'une centaine de proies différentes identifiées au niveau du genre), y compris des proies strictement terrestres. Si ses préférences alimentaires pour les EPT ont été confirmées, les proies les plus fréquentes du desman des Pyrénées sont aussi majoritairement les plus abondantes dans les cours d'eau. De plus, un nombre très important de proies rares (i.e. peu fréquentes dans les fèces) a été identifié. L'ensemble de ces éléments souligne le caractère flexible du régime alimentaire du desman des Pyrénées. Ce travail de thèse a aussi permis de montrer que

ses préférences alimentaires sont directement dépendantes des conditions environnementales locales. En effet, les caractéristiques physiques locales des cours d'eau (e.g. vitesse de courant, type de substrat) définissent la disponibilité des différents types d'habitats au sein desquels le desman des Pyrénées pourra chasser ainsi que le type de proies (i.e. présence et abondance) qu'il pourra y trouver.

Afin d'améliorer les connaissances sur l'habitat de chasse du desman des Pyrénées, une méthode originale combinant des analyses génétiques de fèces, un échantillonnage des invertébrés des cours d'eau et une description des caractéristiques biologiques, écologiques et fonctionnelles des invertébrés consommés a été menée. D'autres méthodes comme les suivis télémétriques sont généralement mises en œuvre pour caractériser spatialement et temporellement l'utilisation des habitats par les espèces (e.g. Balestrieri *et al.*, 2009 ; Anastácio *et al.*, 2015 ; Schweiger *et al.*, 2015). Ces méthodes ont par exemple été testées avec succès pour étudier les déplacements du desman des Pyrénées (e.g. Melero *et al.*, 2012a, 2014 ; Lim, 2015) et de la crossope aquatique (Lardet, 1988) le long des cours d'eau mais nécessitent une pression de piégeage très importante pour la capture d'un faible nombre d'individus suivis. Les conclusions qui en sont faites sont ainsi difficilement généralisables. De plus, dans le cas des études sur le desman des Pyrénées, la localisation du signal émis par les individus marqués est estimée par le croisement de deux directions seulement du fait des mouvements des animaux qui suivent les cours d'eau (Melero *et al.*, 2014 ; Lim, 2015), ce qui entraîne des imprécisions dans la détection. Cette marge d'erreur a été de 0.2 m pour Melero *et al.* (2012a, 2014) et jusqu'à ≈ 3 m de linéaire de cours d'eau pour Lim (2015). Cette méthode n'est donc pas assez précise pour renseigner sur les déplacements transversaux au sein du lit mineur mais aussi sur les déplacements latéraux dans la largeur du cours d'eau (M. Némoy, F. Blanc, CEN-MP, comm. pers. ; Lim, 2015). De ce fait, ce type de suivi par télémétrie ne peut pas donner de positions suffisamment précises pour renseigner sur l'utilisation à très fine échelle des habitats de chasse. Ainsi, l'approche proposée dans cette thèse pour caractériser les habitats de chasse à partir des traits biologiques et écologiques des proies est une alternative à ces suivis télémétriques dont l'efficacité a été démontrée pour combler les lacunes concernant les zones de chasse préférentielles du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique.

En effet, cette étude a permis de mettre en évidence une préférence alimentaire du desman des Pyrénées pour les taxons ayant des affinités pour les zones de courant important et de substrats plutôt grossiers (e.g. gros blocs). Ces résultats montrent ainsi que l'identité taxonomique des proies est un facteur secondaire dans le régime alimentaire du desman des Pyrénées, car il semble globalement consommer ce qu'il trouve dans ses habitats de chasse préférentiels. En dehors de ses exigences pour des berges présentant des cavités nécessaires à son gîte, les exigences écologiques

connues du desman des Pyrénées (i.e. hétérogénéité du lit mineur, zones de courant ; e.g. Charbonnel *et al.*, 2015 ; Biffi *et al.*, 2016) sont donc cohérentes avec les caractéristiques de ses habitats de chasse préférentiels qui sont favorables à une diversité et une abondance élevées d'invertébrés. La présence du desman des Pyrénées dans un cours d'eau semble donc fortement liée à la ressource pour son alimentation.

Le caractère plutôt généraliste du régime alimentaire du desman des Pyrénées peut faciliter la gestion de l'espèce qui semble s'accommoder des cours d'eau où la ressource trophique en invertébrés aquatiques et terrestres est suffisamment abondante et diversifiée dans ses zones de chasse préférentielles. En effet, les espèces ayant un régime alimentaire généraliste ont des comportements alimentaires plus flexibles qui les rendent souvent moins sensibles aux altérations de leur environnement, dans la mesure où elles peuvent se tourner vers des ressources alternatives et où la densité de prédateurs reste limitée (Ramakrishnan *et al.*, 1999 ; Bearzi *et al.*, 2006 ; Murgatroyd *et al.*, 2016). Toutefois, les pressions d'origine anthropique (cf. §8.1) peuvent avoir des conséquences sur le comportement alimentaire du desman des Pyrénées en altérant directement ses habitats de chasse ou en réduisant la diversité et la quantité de ses ressources trophiques. Ainsi, il semble préconisé de restaurer les écoulements naturels favorisant des courants élevés et des substrats grossiers dans les secteurs impactés, et de les maintenir dans des milieux qui sont encore préservés.

Malgré ces résultats qui permettent d'améliorer les connaissances sur le régime alimentaire du desman des Pyrénées, il est important de rappeler les principales limites inhérentes aux outils génétiques utilisés pour cette étude. La limite la plus importante est que cette méthode ne permet pas de déterminer quantitativement le régime alimentaire des espèces. Il est en effet pour l'instant impossible de savoir quelle est la part de chaque proie en termes de biomasse, de volume ou de nombre relatif d'éléments dans les fèces. Les conclusions précédentes se basent donc sur l'hypothèse que les proies les plus fréquentes dans le régime alimentaire du desman des Pyrénées (i.e. nombre de fèces où elles sont détectées) sont ses proies préférentielles. Cependant, l'abondance des invertébrés benthiques peut être très variable dans les cours d'eau à une résolution spatiale très fine (e.g. distribution en patchs : Downes *et al.*, 1993), rendant les fréquences d'occurrence dans les fèces potentiellement peu fiables pour conclure sur une sélectivité alimentaire. Bien qu'un nombre important de fèces ait été collecté à différentes périodes, ce biais persiste et le doute ne serait levé que par une étude quantitative du régime alimentaire du desman des Pyrénées. Dans l'attente que les méthodes moléculaires de quantification des séquences d'ADN amplifiées dans les fèces puissent donner des estimations fiables de la représentativité de chaque taxon consommé dans le régime alimentaire d'un prédateur (J. Michaux, ULg, comm. pers.), il pourrait être intéressant de combiner ces approches moléculaires à des approches plus traditionnelles

d'identification visuelle des restes trouvés dans les fèces. Les outils génétiques permettraient de conserver la grande diversité taxonomique identifiée pour les proies tandis que les approches d'identification visuelle permettraient d'obtenir d'autres informations comme les stades (i.e. larve, imago, adulte) des proies consommées et la part qu'elles représentent dans le régime alimentaire.

Les outils génétiques ont mis en évidence une consommation non négligeable par le desman des Pyrénées de proies strictement terrestres. Il n'a toutefois pas été possible de déterminer si ces proies ont été consommées directement sur les berges ou si elles sont tombées dans l'eau puis consommées de façon opportuniste par le desman des Pyrénées. De plus, sans donnée sur la disponibilité de ces taxons terrestres, la sélectivité du desman des Pyrénées pour ce type de proies n'a pas pu être étudiée. La collecte des invertébrés terrestres présents à proximité des berges requiert en effet une importante pression de piégeage et la mise en place de méthodes variées d'échantillonnage (e.g. aspirateurs à insectes, piège Barber pour la faune mobile à la surface du sol, appareil de Berlese pour les échantillons de litières). Un tel échantillonnage nécessite donc des ressources humaines, financières et matérielles importantes pour être représentatif le long des cours d'eau car les micro-habitats y sont nombreux. Un tel échantillonnage n'a pas pu être réalisé dans le cadre de cette thèse du fait des ressources limitées qui ont été allouées en priorité à l'échantillonnage d'invertébrés aquatiques qui étaient connus comme les proies les plus fréquentes dans le régime alimentaire du desman des Pyrénées. Des études futures sur l'écologie trophique de ce dernier devraient donc considérer avec attention la part terrestre de son régime alimentaire, qui pourrait représenter une ressource alternative en cas de perturbations locales du lit mineur (e.g. pollution chimique, variation saisonnière des niveaux d'eau) et par conséquent des communautés d'invertébrés aquatiques (Clavero *et al.*, 2003 ; Kraus *et al.*, 2016 ; Milardi *et al.*, 2016).

Enfin, la dernière limite des outils génétiques concerne leur coût de réalisation. Il doit en effet être pris en compte si les ressources financières sont limitées ce qui est souvent le cas pour les gestionnaires de la biodiversité. A titre d'exemple, le coût d'identification de l'auteur et des proies a été d'environ une vingtaine d'euros par fèces pour cette étude, auquel doit s'ajouter le salaire de la personne qui prélève les fèces et celle qui réalise les analyses génétiques. L'investissement financier est donc loin d'être négligeable pour analyser un grand échantillon permettant d'obtenir des résultats représentatifs de l'espèce étudiée.

8.3. INTERACTIONS TROPHIQUES ET SPATIALES DU DESMAN DES PYRENEES AVEC UN COMPETITEUR POTENTIEL, LA CROSSOPE AQUATIQUE

Dans le chapitre 3, une influence négative de la présence de la crossope aquatique sur le nombre de fèces de desman des Pyrénées dans les cours d'eau ariégeois a été mise en évidence. De ce constat sont nées deux hypothèses :

- (i) le desman des Pyrénées éviterait les tronçons de cours d'eau où la crossope aquatique est présente, car cette dernière pourrait être compétitrice pour l'habitat ou la ressource trophique. En effet, les niches écologiques des deux espèces se recouvrent (e.g. Santamarina, 1993 ; Castién & Gosálbez, 1999 ; Greenwood *et al.*, 2002 ; Charbonnel *et al.*, 2015) ;
- (ii) les tronçons de cours d'eau les plus favorables au desman des Pyrénées (i.e. considérés dans cette étude comme ceux où le nombre de fèces est le plus élevé) sont moins favorables à la crossope aquatique du fait par exemple d'une utilisation contrastée des micro-habitats (e.g. zones préférentielles de chasse différentes).

Malgré une ressource trophique probablement limitante en été, le régime alimentaire des deux espèces présente un recouvrement de leurs proies plutôt faible, même s'il reste tout de même non négligeable. La principale différence observée entre les régimes alimentaires des deux espèces est la consommation d'un plus grand nombre de proies terrestres chez la crossope aquatique que chez le desman des Pyrénées. Cette différence pourrait résulter d'une plus grande adaptation morphologique du desman des Pyrénées à la chasse en milieu aquatique qui lui donnerait un avantage en termes d'efficacité de capture : pattes palmées (Puisségur, 1935 ; Palmeirim, 1983) et durée des apnées de 1 à 4 min pour le desman des Pyrénées (Richard & Micheau, 1975), contre 3 à 24 s pour la crossope aquatique (Lardet, 1988 ; Mendes-Soares & Rychlik, 2009). Cette hypothèse semble confirmée puisque la crossope aquatique semble globalement chasser dans des habitats aquatiques peu turbulents et accessibles comme les zones d'eau calme où les sédiments fins et où les litières peuvent s'accumuler (e.g. bords de berges). Au contraire, le desman des Pyrénées privilégie les zones de radiers et les substrats grossiers où le courant est plus fort (Figure 8-2). Ce dernier serait donc plus adapté à la typologie des torrents de montagne dont il dépend, alors que la crossope aquatique serait plus sélective dans ces milieux de chasse en milieu aquatique. Ces résultats tendent donc à confirmer une certaine ségrégation spatiale dans l'utilisation de l'habitat de chasse de ces deux espèces ce qui corroborerait plutôt la deuxième hypothèse émise ci-dessus.

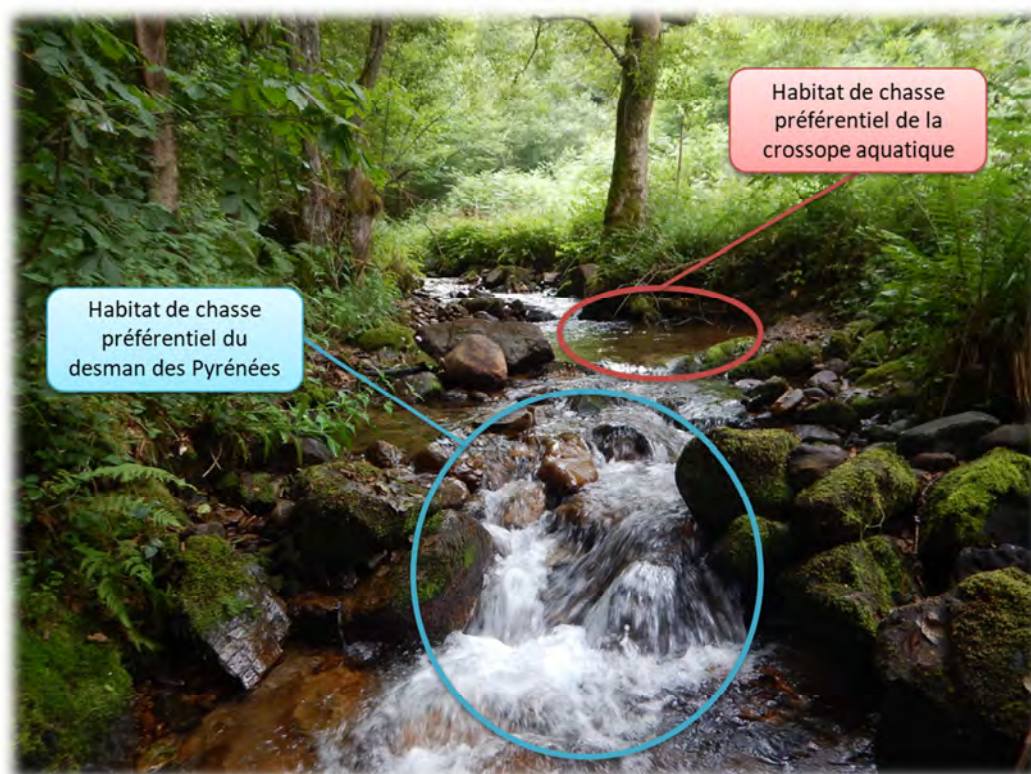


Figure 8-2 : Habitats de chasse préférentiels du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique qui diffèrent en termes de vitesse de courant (i.e. rapide vs. lent, respectivement) et de types de substrats (i.e. grossier vs. fin, respectivement).

Les conditions météorologiques pluvieuses de l'été 2015 n'auront pas permis de tester l'hypothèse d'une ségrégation spatiale à l'échelle du tronçon de 250 m de cours d'eau, comme cela avait été initialement prévu. Avec les outils statistiques actuellement disponibles, la réalisation d'un troisième passage sur les sites d'étude aurait en effet permis d'étudier les patrons de co-occurrence des deux espèces en relation avec les variables abiotiques d'habitat mesurées pour chaque sous-section de 50 m, grâce à des modèles prenant en compte la détectabilité des espèces (MacKenzie *et al.*, 2004).

En plus de l'utilisation d'habitats de chasse différents (i.e. ségrégation spatiale), la ségrégation trophique (i.e. sélection de types différents de proies) serait une seconde hypothèse, non exclusive de la première, pour expliquer la co-occurrence du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique dans les rivières ariégeoises. Cette hypothèse n'a toutefois pas été confirmée par les résultats de cette étude puisque les deux espèces semblent consommer les mêmes types de proies, y compris en termes de taille potentielle et de stades aquatiques dans les cours d'eau. En effet, le desman des Pyrénées ne semble pas modifier son régime alimentaire en présence de la crossope aquatique, comme cela pourrait être attendu dans le cas d'une compétition trophique entre les deux espèces. Ces observations ne permettent pas pour autant de conclure définitivement sur l'absence de compétition trophique entre le desman des Pyrénées et la crossope aquatique.

Premièrement, si la crossope aquatique ne semble pas avoir d'influence sur le régime alimentaire du desman des Pyrénées, l'inverse n'a pas été vérifié du fait du faible nombre de sites où la crossope aquatique a été détectée seule dans la zone d'étude. Pourtant, certains éléments pourraient suggérer que le desman des Pyrénées est un meilleur compétiteur. En effet, il est approximativement trois fois plus grand que la crossope aquatique, et le prédateur le plus gros est souvent celui qui domine. Ensuite, la crossope aquatique semble cibler plus de proies terrestres dans les sites prospectés pour cette thèse que dans d'autres zones situées en dehors de l'aire de distribution du desman des Pyrénées où les compétiteurs potentiels sont plutôt des musaraignes terrestres et la crossope de Miller *N. anomalus* (e.g. Churchfield, 1984b ; DuPasquier & Cantoni, 1992). Cela pourrait suggérer un déplacement de la crossope aquatique d'une niche trophique contenant une plus grande proportion de proies aquatiques, vers une niche trophique plus terrestre et peut-être moins optimale en présence du desman des Pyrénées.

Deuxièmement, comme déjà évoqué, les données de régime alimentaire de ces deux espèces sont limitées aux fréquences d'occurrence des proies dans les fèces. Ainsi, les proies consommées par les deux prédateurs pourraient être consommées dans des proportions différentes en termes d'abondance, de biomasse ou de volume dans les fèces. Les comparaisons de régime alimentaire réalisées dans le cadre de cette thèse ne sont donc que qualitatives et pourraient mener à des conclusions erronées, même si l'homogénéité des régimes alimentaires en termes de composition taxonomique entre les deux mammifères réduit ce risque (Klare *et al.*, 2011).

Troisièmement, un recouvrement trophique, quel qu'il soit, n'implique pas obligatoirement une compétition trophique lorsque les proies sont abondantes (Brown *et al.*, 2014), plus particulièrement lorsque les prédateurs ne montrent pas de préférences alimentaires marquées et consomment globalement les ressources disponibles (Bauduin *et al.*, 2013). Dans cette étude, si les proies aquatiques échantillonnées ne semblent pas faire l'objet d'une sélection marquée par les deux espèces, un échantillonnage des proies potentiellement disponibles dans le milieu terrestre pourrait améliorer les connaissances sur l'écologie trophique du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique. De plus, si la densité de prédateurs est faible et que les proies ne sont pas limitantes, il est peu probable que les pressions de prédation exercées sur les mêmes ressources trophiques conduisent à une compétition trophique. Cette hypothèse nécessiterait des données sur les densités de populations du desman des Pyrénées et de la crossope aquatique pour être confirmée. De telles données pourraient être obtenues de façon non-invasive à partir de dispositifs de capture-marquage-recapture, mais les taux de capture sont faibles pour le desman des Pyrénées (M. Némoy, F. Blanc, CEN-MP, comm. pers. ; Lim, 2015), ou bien d'analyses génétiques identifiant les individus à partir des fèces (e.g. pour la loutre d'Europe ; Lampa *et al.*, 2015). Cependant, l'identification individuelle des

animaux capturés par analyse génétique est coûteuse (J. Michaux, ULg, comm. pers.). Il serait également nécessaire de définir plus précisément le seuil au-delà duquel la quantité d'invertébrés serait limitante pour le desman des Pyrénées et la crossope aquatique puisque les proies aquatiques potentielles collectées pour cette étude semblent être présentes en abondance dans la zone d'étude (S. Lamothe, EcoLab, comm. pers.), malgré l'hypothèse formulée à propos de ressources plus limitantes dans les cours d'eau à la saison estivale.

Quatrièmement, les données utilisées pour mettre en évidence une éventuelle compétition trophique et spatiale entre le desman des Pyrénées et la crossope aquatique ne concernent que la saison estivale. Conclure à propos de cette compétition nécessiterait de mener le même type d'étude durant les autres saisons puisque la disponibilité des ressources n'y est vraisemblablement pas la même (e.g. pour la loutre d'Europe : Lanszki *et al.*, 2009 ; Smiroldo *et al.*, 2009). Cependant, les cours d'eau de montagne sont situés dans des zones où les prospections peuvent être très difficiles, voire impossibles, en hiver à cause de la neige qui recouvre les berges et les éléments émergés, et qui limite l'accès aux cours d'eau, qui peuvent en plus être gelés. Au printemps, les débits peuvent être importants en raison de la fonte des neiges, rendant le déplacement dans les cours d'eau dangereux. Les zones de dépôt de fèces sont également moins nombreuses du fait de hauteurs d'eau plus élevées. Ces prospections restent néanmoins réalisables puisque certains cours d'eau des Pyrénées ont été prospectés en hiver dans le cadre du PNAD (Charbonnel, 2015). Il est dans ce cas nécessaire de choisir les cours d'eau à prospecter en fonction des connaissances locales du terrain. De plus, il semble indispensable de se concentrer sur des cours d'eau peu larges, d'accès facile par des routes déneigées et dans lesquels les éléments émergés sont nombreux.

En résumé, cette étude montre que les zones de chasse utilisées et les proies consommées par la crossope aquatique sont globalement similaires à celles utilisées et consommées par le desman des Pyrénées, à quelques différences près. Même s'il n'est pas possible de statuer sur l'existence d'une compétition entre les deux espèces pour les diverses raisons évoquées précédemment, le desman des Pyrénées ne semble pas être impacté par la présence de la crossope aquatique, ce qui rend peu probable une quelconque influence de cette dernière dans le déclin global de la répartition du desman des Pyrénées dans son aire de répartition (Gisbert & García-Perea, 2014 ; Pedroso & Chora, 2014 ; Charbonnel *et al.*, 2016). Ceci implique également que toute mesure de gestion mise en place pour protéger le desman des Pyrénées et ses proies, serait également profitable, au moins en partie, à la crossope aquatique qui est également un mammifère ayant un statut de conservation en France.

8.4. LA PRESENCE DE DEUX PREDATEURS SEMI-AQUATIQUES PEUT-ELLE EXPLIQUER LE DECLIN DU DESMAN DES PYRENEES ?

Les prédateurs du desman des Pyrénées, bien que relativement peu connus à ce jour, pourraient jouer un rôle essentiel dans le déclin de ce dernier en France (Charbonnel *et al.*, 2016). Par exemple, la présence du vison d'Amérique multiplie par deux la probabilité d'extinction du campagnol *Arvicola terrestris* au Royaume-Uni (Rushton *et al.*, 2000). L'influence de deux espèces de carnivores semi-aquatiques, la loutre d'Europe et le vison d'Amérique, a été étudiée au regard de la pression de prédation éventuelle qu'ils pourraient exercer sur le desman des Pyrénées et du lien potentiel entre l'invasion des cours d'eau pyrénéens par le vison d'Amérique et la contraction de l'aire de répartition du desman des Pyrénées.

8.4.1. La loutre d'Europe, un prédateur du desman des Pyrénées en France

Concordant avec la littérature (Callejo & Delibes, 1987 ; Adrián Dossío *et al.*, 1988 ; García *et al.*, 2009b ; Fernández-López *et al.*, 2014), les analyses génétiques menées sur quelques épreintes de loutre d'Europe ont confirmé une prédation de cette dernière sur le desman des Pyrénées en France (*cf.* chapitre 7). L'intensité de cette prédation reste néanmoins à quantifier du fait des méthodes génétiques employées (*cf.* §8.2 sur les limites des méthodes génétiques pour décrire le régime alimentaire) et du faible nombre d'épreintes collectées qui ne couvrent pas la totalité de l'aire de répartition du desman des Pyrénées en France. La constitution d'un réseau de prospecteurs permettrait de mettre en place un suivi plus systématique et qui couvrirait l'ensemble de la chaîne des Pyrénées françaises. L'implication de bénévoles dans ce réseau au travers des sciences participatives serait certainement possible du fait de la facilité relative à trouver et identifier des épreintes de loutre d'Europe. Les bénévoles ont d'ailleurs été sollicités pour actualiser la carte de répartition de l'espèce en France dans le cadre du PNA Loutre (Kuhn, 2009). En effet, cette espèce dépose fréquemment ses épreintes dans des zones stratégiques (e.g. sous les ponts, au niveau de confluence) facilement accessibles et prospectables. De plus, les caractéristiques uniques des épreintes de loutre d'Europe en termes de forme (i.e. 2-5 cm de long, hérissées de restes de proies mélangés à une substance visqueuse qui noircit en séchant, fèces non lisses et torsadées comme chez les autres mustélidés ; Figure 8-3) et d'odeur (i.e. odeur musquée d'huile de lin ou de miel, persistante dans le temps) les rendent facilement identifiables (V. Lacaze, ANA, comm. pers.). Une journée de formation peut être suffisante pour apprendre à détecter la présence de loutre d'Europe

même si les risques de mauvaise identification des fèces restent possible (i.e. faux négatifs et faux positifs). L'expérience de terrain de nouveaux bénévoles avec d'autres prospecteurs expérimentés permet néanmoins de maximiser la détection de l'espèce (Jeffress *et al.*, 2011). La validation génétique utilisée dans cette thèse permettrait aussi de s'affranchir des éventuels faux positifs.



Figure 8-3 : Empreinte de loutre d'Europe.

Si la pression de prédation qu'exerce la loutre d'Europe, en phase de recolonisation dans les Pyrénées (Kuhn, 2009), sur le desman des Pyrénées venait à être identifiée comme non négligeable et source de menaces pour la persistance des populations de ce dernier, nous serions face à un conflit pour la conservation de ces deux espèces protégées. En effet, la réintroduction ou la recolonisation naturelle d'espèces natives de prédateurs dans leurs aires de répartition historique peut être une source de conflits entre ces prédateurs et (i) les activités humaines, (ii) la conservation de leurs proies qui peuvent être également menacées ou (iii) la conservation d'autres prédateurs natifs avec lesquels ils entrent en compétition pour la ressource (Marshall *et al.*, 2016). Par exemple, la recolonisation naturelle du loup *Canis lupus* et la réintroduction de l'ours brun *Ursus arctos* en Espagne sont à l'origine de conflits avec les agriculteurs (e.g. prélèvements dans les troupeaux, dégâts causés aux ruches ; Fernández-Gil *et al.*, 2016). Les exemples d'effets secondaires négatifs sur des espèces natives résultant de la protection et de la colonisation de prédateurs historiques sont nombreux. Par exemple, la mangouste d'Egypte *Herpestes ichneumon*, qui s'étend naturellement dans la Péninsule Ibérique, exerce une pression de prédation sur les populations locales de lapin de garenne et de perdrix rouge *Alectoris rufa*, et entre en compétition directe avec le lynx ibérique en danger d'extinction, qui se nourrit des même proies, ainsi qu'avec les activités locales de chasse

(Martínez-Jauregui *et al.*, 2017). L'augmentation des densités de populations de loutre de mer *Enhydra lutris kenyoni* est également un facteur qui ralentit le rétablissement des populations d'ormeau nordique *Haliotis kamtschatkana* après une période de surpêche, dont la loutre de mer se nourrit, et dont les populations ne peuvent subsister qu'en très faibles densités en sa présence (Chadès *et al.*, 2012). Ces deux espèces sont protégées sur les mêmes territoires où elles font l'objet de plans de gestion individuels mais qui n'incluent pas leurs interactions (Chadès *et al.*, 2012). Il est également largement documenté qu'une pression accrue par le retour de prédateurs natifs sur des populations de proies déjà peu abondantes peut poser problème pour leur maintien à une échelle locale (Raimondi *et al.*, 2015 ; Fancourt, 2016).

Concernant la loutre d'Europe, la prédation qu'elle exerce sur plusieurs espèces d'amphibiens (e.g. triton palmé *Lissotriton helveticus*, pleurodèle de waltl *Pleurodeles waltl*, pélobate cultripède *Pelobates cultripes*) peut être localement très importante (Cogălniceanu *et al.*, 2010 ; Parry *et al.*, 2015). Cette pression s'additionne à la fragmentation des habitats aquatiques qui sont de plus soumis à des conditions répétées de sécheresse (i.e. mares temporaires du sud de l'Espagne ; Cogălniceanu *et al.*, 2010).

Dans le cas du desman des Pyrénées, deux hypothèses peuvent être formulées quant au rôle potentiel de la loutre d'Europe dans le déclin de l'espèce. Selon la première, la loutre d'Europe jouerait un rôle majeur dans le déclin du desman des Pyrénées mais il pourrait s'agir d'un retour naturel aux conditions historiques dans les relations proies-prédateurs entre les deux espèces. En effet, la disparition de la loutre d'Europe au cours du XX^{ème} siècle (i.e. dégradation de ses habitats aquatiques, chasse ; Kuhn, 2009) aurait eu tendance à réduire la pression de prédation qu'elle exerçait sur le desman des Pyrénées qui aurait ainsi vu ses populations augmenter, à condition que les conditions environnementales lui soient restées favorables sur son aire de répartition. Les populations qualifiées d'historiques dans cette étude (i.e. 1985-1990) ne résulteraient pas d'un équilibre naturel entre proies et prédateurs et serviraient alors de base erronée pour les perspectives de rétablissement des populations du desman des Pyrénées espérées par les gestionnaires, les scientifiques et les décideurs politiques. Le retour progressif de la loutre d'Europe dans les Pyrénées françaises serait alors responsable de la contraction de l'aire de répartition du desman des Pyrénées par des processus naturels de régulation des relations proies-prédateurs. Cette hypothèse est émise dans le cas de la loutre de mer et de l'ormeau nordique par Lee *et al.* (2016). Sans donnée sur la distribution globale du desman des Pyrénées avant les années 1985, il n'est pas possible d'exclure totalement cette première hypothèse. Néanmoins, la part que représente le desman des Pyrénées dans le régime alimentaire de la loutre d'Europe semble, avec ces premières analyses, trop faible pour la corroborer.

La seconde hypothèse, qui semble plus plausible, suppose qu'il est peu probable que le retour de la loutre d'Europe soit la cause principale du déclin global des populations de desman des Pyrénées. Cette régression serait plutôt due à une synergie d'autres facteurs (e.g. activités humaines, dégradation de son milieu, invasions biologiques). Par contre, du fait de sa prédation avérée sur le desman des Pyrénées, même en faible proportion, il est possible que la loutre d'Europe limite actuellement le maintien des populations de desman des Pyrénées, déjà soumises à d'autres pressions. Ainsi, la loutre d'Europe ne serait qu'un facteur supplémentaire agissant sur le déclin local, voire global, de l'espèce. L'hypothèse d'un effet additif causé par la prédation a, par exemple, été proposée pour expliquer le déclin du chat marsupial moucheté *Dasyurus viverrinus* en Tasmanie (Fancourt, 2016). Dans les exemples précédemment cités (Cogălniceanu *et al.*, 2010 ; Parry *et al.*, 2015), la persistance des populations d'amphibiens est remise en question à cause de la prédation de la loutre d'Europe. Cette ressource alimentaire lui est pourtant nécessaire en tant que ressource secondaire lorsque ses proies principales, les poissons, sont limitantes. La prédation d'amphibiens lui permet également de ne pas entrer en compétition avec d'autres mustélidés pour des proies plus terrestres (Parry *et al.*, 2015).

La pression de prédation du prédateur peut causer préjudice à ses proies. Mais elle peut simultanément leur être bénéfique par le biais d'effets cascades secondaires lorsqu'elle se nourrit également d'autres proies. Ceci est observé, par exemple, dans le cas de la loutre de mer et de l'ormeau nordique qu'elle consomme mais qu'elle favorise simultanément, en exerçant une pression de prédation sur les étoiles de mer et oursins, prédateurs et compétiteurs respectifs de l'ormeau (Lee *et al.*, 2016). Ces résultats mettent en évidence la nécessité d'étudier et de prendre en compte la complexité des interactions biotiques entre les espèces pour la gestion, avec un enjeu émergent tourné vers les programmes de gestion multi-espèces et multi-groupes taxonomiques (Cogălniceanu *et al.*, 2010 ; Raimondi *et al.*, 2015 ; Lee *et al.*, 2016). L'absence de prise en compte de ces interactions peut en effet rendre les stratégies de gestion inefficaces pour une espèce ciblée, conduire aux gaspillages des ressources allouées à la conservation et dans le pire des cas, accentuer les risques d'extinction qui pèsent sur les espèces ciblées (Chadès *et al.*, 2012). Cependant, les programmes de gestion multi-espèces sont plus complexes et souvent plus difficiles à mettre en place. Ils nécessitent une réflexion poussée sur les objectifs, les actions de gestion concrètes nécessaires et les critères d'évaluation de leur efficacité (Ortega-Argueta *et al.*, 2017).

Dans le contexte global d'érosion de la biodiversité, il est important de souligner que ces problématiques sont difficiles à gérer. Il est en effet difficilement recevable éthiquement et scientifiquement de contrôler des espèces protégées jugées en déclin ou en danger d'extinction, qui recolonisent naturellement ou avec l'aide d'une intervention humaine (e.g. réintroduction, soutien

d'effectifs) leurs territoires historiques, et ce, même si elles sont à l'origine de pressions, plus ou moins importantes, sur les autres espèces natives, qui peuvent elles aussi bénéficier d'un statut de protection. De telles mesures seraient également peu acceptables socialement (Chadès *et al.*, 2012 ; Marshall *et al.*, 2016) du fait que beaucoup d'espèces précédemment citées sont emblématiques et patrimoniales pour les populations humaines locales.

8.4.2. Le vison d'Amérique, à l'origine de la contraction de l'aire de distribution du desman des Pyrénées ?

Le nombre très faible de fèces de vison d'Amérique qui a pu être collecté pour cette étude ne permet pas actuellement de statuer qualitativement, et encore moins quantitativement, sur la prédation de cette espèce sur le desman des Pyrénées en France. Cette pression n'est cependant pas à négliger puisque la prédation du desman des Pyrénées par le vison d'Amérique est avérée dans plusieurs études espagnoles où le desman des Pyrénées a été retrouvé dans plus d'un quart des fèces de vison d'Amérique collectées (n = 94 fèces ; Romero, 2015). De plus, le vison d'Amérique est souvent cité comme potentiellement responsable du déclin du desman des Pyrénées (e.g. Barbosa *et al.*, 2009 ; Gisbert & García-Perea, 2014 ; Pedroso & Chora, 2014), notamment dans le centre de l'Espagne, mais sans que des données scientifiques n'aient pu le confirmer jusqu'à présent (Aymerich & Gosálbez, 2014). Son influence particulièrement négative sur d'autres populations natives que celles de desman des Pyrénées est aussi largement connue. En effet, la pression de prédation du vison d'Amérique est par exemple associée à une réduction des densités de populations, des succès de reproduction et à la contraction des aires de répartition de poissons (e.g. Melero *et al.*, 2012b), d'amphibiens (e.g. Ahola *et al.*, 2006), d'oiseaux (e.g. Clode & Macdonald, 2002), de mammifères semi-aquatiques (e.g. Aars *et al.*, 2001 ; Brzeziński *et al.*, 2010 ; García-Díaz *et al.*, 2013) et de crustacés (voir les revues de Macdonald & Harrington, 2003 ; Bonesi & Palazón, 2007). Ainsi, cette pression de prédation potentiellement exercée par le vison d'Amérique sur le desman des Pyrénées mériterait rapidement une attention plus particulière.

Le faible nombre de fèces de vison d'Amérique collectées dans cette étude semble indiquer que le relevé opportuniste de fèces autour des cours d'eau ne semble pas être la méthode la plus adéquate pour quantifier l'intensité de prédation de cette espèce sur le desman des Pyrénées en France. D'une part, la digestion très rapide du vison d'Amérique limite la présence de traces d'ADN des proies dans ses fèces. En effet, seules les proies ingérées dans les dernières heures qui précèdent leur dépôt peuvent ainsi être détectées par les analyses génétiques (P. Fournier, GREGE, comm. pers.). D'autre part, la détection des fèces de vison d'Amérique dans le milieu naturel pose problème aux

gestionnaires en France (J. Steinmetz, ONCFS, comm. pers.) avec de faibles taux de détection pouvant être dus à la dissimulation des fèces dans une végétation souvent abondante en bordure de berges et à d'autres facteurs encore mal compris (J. Steinmetz, ONCFS, comm. pers.). La recherche de fèces ne semble donc pas appropriée pour obtenir un nombre suffisant d'échantillons si cette seule méthode est utilisée. Une étude ciblée nécessiterait la mise en place d'un important réseau de prospecteurs de fèces, de piégeurs pour récupérer des contenus intestinaux (i.e. plus riches en ADN de proies que les contenus stomacaux ; J. Michaux, ULg, comm. pers.), de collecteurs de cadavres (e.g. collisions routières) à travers les Pyrénées françaises. Une telle étude représenterait un investissement humain, en temps et financier très important mais semble indispensable pour répondre à cette problématique.

Par ailleurs, l'expansion de l'aire de répartition du vison d'Amérique dans les Pyrénées françaises depuis une vingtaine d'années semble être parallèle à la diminution de celle du desman des Pyrénées. Dans les années 1985-1990, le vison d'Amérique n'était encore que peu présent dans les Pyrénées françaises (Léger & Ruet, 2005), impactant vraisemblablement très peu les autres espèces. Plus récemment, le vison d'Amérique a largement étendu son aire de répartition dans les Pyrénées. Cette étude met en évidence que la présence du vison d'Amérique est actuellement le second facteur expliquant la distribution du desman des Pyrénées en France, parmi tout un ensemble d'autres facteurs abiotiques et biotiques, à l'échelle des zones hydrographiques. Le desman des Pyrénées est aujourd'hui absent d'une grande partie de l'ouest des Pyrénées françaises où les populations de vison d'Amérique sont les plus importantes (i.e. front de colonisation historique). Bien qu'il ne soit pas possible de conclure sur un lien de cause à effet direct entre ces patrons de changements d'aires de répartition, ces premiers éléments incitent à poursuivre plus en détails les investigations sur le rôle du vison d'Amérique. Même s'il n'était pas la cause principale de la régression récente du desman des Pyrénées dans les Pyrénées françaises, il est indéniable que la pression de prédation qu'il peut exercer est une source supplémentaire de menaces, comme celle de la Loutre d'Europe, qui peut conduire à la fragmentation des populations et à une disparition au moins locale de l'espèce.

Cette problématique est d'ailleurs considérée depuis peu dans le cadre de l'action « C2 : neutralisation des points noirs susceptibles d'entraîner une mortalité des desmans des Pyrénées » du projet LIFE+ Desman. Cette action fait suite à de nouvelles observations du vison d'Amérique depuis 2014 dans une zone de forte présence du desman des Pyrénées dans les Pyrénées Catalanes (M-O. Durand, FRNC, comm. pers. ; Coulon, 2016). Une première campagne de régulation a été mise en place à proximité de la Réserve Naturelle Nationale de Nohèdes (66) en 2016 (Coulon, 2016) et devra être poursuivie pour obtenir des résultats plus complets (i.e. seul un individu a été capturé) et des

informations sur les impacts encore peu connus du vison d'Amérique sur la faune locale dans ce secteur. De telles mesures pourraient bénéficier en France à de nombreuses autres espèces d'intérêt, en plus du desman des Pyrénées, comme le vison d'Europe, le putois d'Europe et la genette *Genetta genetta* avec qui le vison d'Amérique est en compétition (Sidorovich & Macdonald, 2001 ; Melero *et al.*, 2012b ; Santulli *et al.*, 2014 ; Palazón *et al.*, 2016) ainsi qu'à ses proies principales (e.g. Melero *et al.*, 2012b ; García-Díaz *et al.*, 2013). L'éradication complète du vison d'Amérique semble utopique dans un territoire continental vaste où l'espèce est bien établie et où les couloirs de colonisation sont multiples, même si de telles mesures ont déjà été couronnées de succès pour cette espèce sur de grands territoires (e.g. Bryce *et al.*, 2011). Son éradication semble plus réaliste dans les zones insulaires où l'expansion est limitée (e.g. Zabala *et al.*, 2010). Plusieurs campagnes d'éradication du vison d'Amérique ont d'ailleurs été mises en place en Europe avec succès à des échelles locales (Bonesi & Palazón, 2007) mais des données récentes ne sont pas disponibles pour attester de leur efficacité sur le long terme (i.e. recolonisation ou non après éradication). En effet, une fois que les efforts de piégeage sont arrêtés, l'espèce recolonise les rivières précédemment occupées (Palazón *et al.*, 2016). Ainsi, le vison d'Amérique a montré des signes de résilience en Espagne malgré d'importantes pressions de piégeage qui n'ont pas permis de diminuer le taux de croissance ou l'abondance (Melero *et al.*, 2010) ou de modifier la structure en âge (Mañas *et al.*, 2016) des populations. Il est donc nécessaire d'assurer des taux de capture supérieurs aux taux de croissance des populations (Oliver *et al.*, 2016) alors même que le piégeage du vison d'Amérique reste peu efficace de manière générale. En effet, il a tendance à ne pas entrer dans les pièges soit de façon active (i.e. refus d'entrer dans le piège), soit de façon passive (i.e. temps mis par l'animal à trouver et entrer dans le piège plus long que la présence du piège dans le milieu ; King *et al.*, 2009). Ainsi, les campagnes de contrôle, de régulation, voire d'éradication de l'espèce nécessiteraient des actions continues, sur le long terme et à grande échelle, plutôt que des actions ponctuelles et locales comme cela a pu être mis en place par le passé. 0

D'autres pistes de gestion du vison d'Amérique pourraient représenter de meilleures alternatives pour le contrôle des populations en termes d'efficacité sur le long terme et d'allocation des ressources financières et humaines nécessaires. En premier lieu, plutôt que de cibler une éradication totale de l'espèce, une limitation de ses impacts pourrait être assurée par le cantonnement de sa répartition. Pour cela, des campagnes de piégeage locales et répétées sur les populations présentes en limite de son aire de répartition connue (Melero *et al.*, 2010) et dans les zones à enjeu (i.e. aires protégées) devraient être mises en œuvre. Ensuite, la compétition avec des espèces natives, comme la loutre d'Europe, pourrait également limiter la colonisation du vison d'Amérique et le maintien de ses populations en faibles densités (cf. §8.4.3).

8.4.3. Interactions entre la loutre d'Europe et le vison d'Amérique : quelles conséquences potentielles pour le desman des Pyrénées ?

La loutre d'Europe et le vison d'Amérique appartiennent à la même guildes de mustélidés et occupent des habitats (e.g. Lundy & Montgomery, 2010) et des niches trophiques (e.g. Wise *et al.*, 1981 ; Bueno, 1996) assez similaires. Plusieurs études ont récemment montré que ces deux espèces entrent en compétition lorsqu'elles sont présentes simultanément sur un même territoire. Dans ce cas, la loutre d'Europe est l'espèce dominante du fait de sa plus grande taille et de sa plus grande efficacité à la chasse en milieu aquatique (Bonesi *et al.*, 2004 ; Bonesi & Macdonald, 2004a). Le vison d'Amérique est notamment exclu de certains cours d'eau en présence de la loutre d'Europe (Bonesi *et al.*, 2006 ; García *et al.*, 2009a). Cette dernière aurait également tendance à retarder la colonisation du vison d'Amérique (Rodrigues *et al.*, 2014). La recolonisation naturelle ou la réintroduction de la loutre d'Europe est également à l'origine d'une diminution des densités et de la fragmentation des populations de vison d'Amérique en Grande-Bretagne (Bonesi & Macdonald, 2004a ; McDonald *et al.*, 2007).

Si la présence de la loutre d'Europe est susceptible de diminuer l'impact du vison d'Amérique sur les espèces natives, notamment les proies, et ainsi favoriser leur persistance (McDonald *et al.*, 2007), elle pourrait également avoir l'effet inverse. En effet, la coexistence de ces deux espèces est généralement possible car le vison d'Amérique, plus généraliste, est capable de modifier son régime alimentaire en présence de la loutre d'Europe. De nombreuses études montrent un déplacement du régime alimentaire du vison d'Amérique en présence de loutre d'Europe vers des proies plus terrestres, notamment les micro-mammifères et les oiseaux (Clode & Macdonald, 1995 ; Bueno, 1996 ; Bonesi *et al.*, 2004 ; Figure 8-4) sur lesquels la pression de prédation est alors accrue. Ce changement de régime alimentaire permet ainsi de diminuer le recouvrement concernant les proies aquatiques entre les deux espèces et d'assurer leur coexistence. Cette coexistence entre la loutre d'Europe et le vison d'Amérique est d'ailleurs plus importante lorsque des proies terrestres potentielles sont abondantes (Bonesi & Macdonald, 2004b).

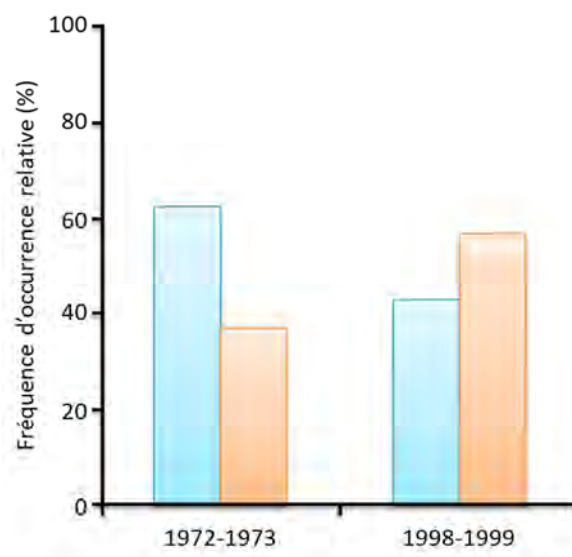


Figure 8-4 : Fréquence relative des proies aquatiques (bleu) et terrestres (orange) dans le régime alimentaire du vison d'Amérique (i.e. en proportion par rapport aux autres éléments de proies dans les fèces) dans la rivière Teign au Royaume-Uni en 1972-1973 et 1998-1999. Dans les années 1970, il n'existait pas de population établie de loutre d'Europe dans la zone (i.e. animaux de passage seulement) comparé à la présence d'une population résidente et abondante dans les années 1990 (d'après Bonesi et al., 2004).

Ainsi, dans les Pyrénées françaises, la recolonisation de la loutre d'Europe pourrait limiter la prédation du vison d'Amérique sur les espèces aquatiques, y compris le desman des Pyrénées. À l'inverse, elle pourrait également conduire au renforcement de la pression de prédation du vison d'Amérique sur le desman des Pyrénées mais aussi par exemple sur la crossope aquatique, tous deux exploitant aussi le milieu terrestre. Dans ce cas, il serait alors urgent de mettre en place des actions de contrôle, de régulation et si possible d'éradication des populations de vison d'Amérique. Ces actions pourraient être rendues plus efficaces par l'effet additif de la suppression de cette espèce par la présence de loutre d'Europe (Bonesi & Macdonald, 2004b).

8.5. LA NECESSITE DE S'INTERESSER A D'AUTRES FACTEURS ET NOTAMMENT A LA BIOLOGIE DU DESMAN DES PYRENEES

Si certains des facteurs abiotiques et biotiques identifiés dans cette étude peuvent exercer individuellement une pression significative sur la présence du desman des Pyrénées, la régression de l'espèce est certainement liée à des effets synergiques d'altération de ses habitats et de sa ressource trophique, et de modification de la pression de prédation qui a pu s'accroître ou qui, même en restant stable, peut empêcher actuellement les populations de se maintenir à de fortes densités. Le

recensement de ces facteurs est encore loin d'être exhaustif et il est très probable que d'autres causes potentielles viennent s'ajouter à cette première liste déjà identifiée.

Par exemple, l'influence de paramètres physiques des cours d'eau, tels que la température de l'eau, n'a pas encore été étudiée pour le desman des Pyrénées et est suspectée par les gestionnaires (V. Lacaze, ANA, comm. pers.). La température de l'eau est en effet un paramètre important qui gouverne les assemblages de poissons (e.g. Lasne *et al.*, 2007a) et la présence d'autres espèces aquatiques comme l'écrevisse signal *Pacifastacus leniusculus* (Vedia *et al.*, 2017). Une influence négative de la température de l'air sur la distribution du desman des Pyrénées à large échelle a été mise en évidence par Charbonnel *et al.* (2016). Bien que la température de l'air soit souvent utilisée comme proxy de la température de l'eau, des études spécifiques devraient être menées à des échelles plus locales avec des suivis de température de l'eau en continu sur l'année. Le contexte de changements climatiques et de réchauffement global pourrait avoir conduit au déplacement des proies du desman des Pyrénées (i.e. remplacement des espèces d'eau froide par des espèces plus tolérantes aux températures de l'eau plus élevées ; Domisch *et al.*, 2013) et pourrait ainsi expliquer l'absence et la disparition de l'espèce des zones de piémont.

Des causes inhérentes à la biologie du desman des Pyrénées, qui reste globalement peu connue, pourraient également avoir un rôle dans le déclin des populations. Des études récentes ont notamment mis en évidence une très faible diversité génétique (i.e. un des plus faibles taux d'hétérozygotie observé chez les mammifères ; Figure 8-5) et de forts taux de consanguinité au sein des populations de desman des Pyrénées (Querejeta *et al.*, 2016). Or, la dépression de consanguinité augmente les risques d'extinction des populations de mammifères et d'oiseaux (O'Grady *et al.*, 2006) en affectant le poids à la naissance, la survie et la reproduction, mais également la résistance aux maladies, à la prédation et aux stress environnementaux (Keller & Waller, 2002). Bien qu'elle puisse, dans certains cas, être naturellement diminuée par la purge des allèles récessifs délétères dans les populations, sous l'effet de la sélection naturelle et de la valeur adaptative moindre des individus qui portent ces allèles (Wang *et al.*, 2000), la dépression de consanguinité résiduelle reste une menace importante pour les populations menacées par la fragmentation de leurs habitats ou la diminution de leurs effectifs (Keller & Waller, 2002). La prise en compte de cette faible diversité génétique semble donc essentielle dans le contexte de la perte de connectivité des cours d'eau et d'altération des habitats, alors que la dispersion du desman des Pyrénées est déjà limitée à l'échelle locale (i.e. entre bassins versants ; Querejeta *et al.*, 2017) et à l'échelle régionale (i.e. peu d'échanges génétiques entre les cinq grandes populations de son aire de répartition ; Querejeta *et al.*, 2016).

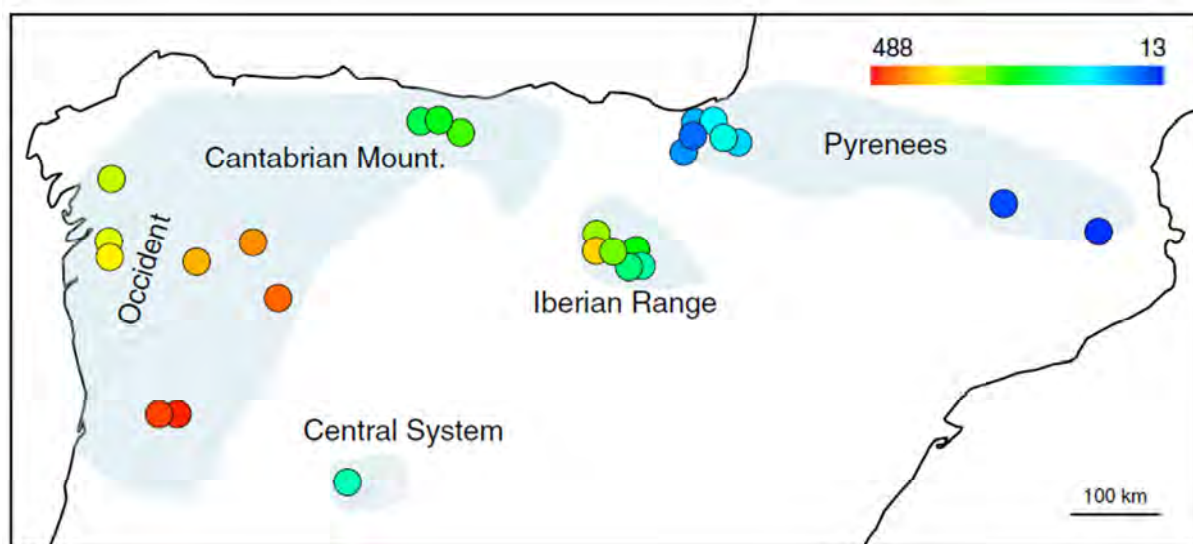


Figure 8-5 : Taux d'hétérozygotie chez différents spécimens de desman des Pyrénées de la Péninsule Ibérique. L'échelle de couleurs indique le nombre de positions hétérozygotes par million de bases dans l'ADN des individus. Les zones ombrées représentent la distribution actuelle de l'espèce (depuis Querejeta et al., 2016). Pour comparaison, les taux d'hétérozygotie sont respectivement de 1350 et 230 positions hétérozygotes par million de bases chez le panda géant (Li et al., 2010) et le léopard des neiges (Cho et al., 2013), et varient de 800 à 2000 positions hétérozygotes par million de bases chez les primates (Prado-Martinez et al., 2013).

Par ailleurs, des études sont nécessaires pour mieux connaître les taux de survie et les taux de fécondité des populations de desman des Pyrénées afin de cibler de façon prioritaire celles qui sont exposées aux plus forts risques d'extinction, par exemple, par des mesures visant à améliorer la qualité de leurs habitats. Jusqu'à présent, aucune expérience d'élevage et de reproduction en captivité n'a été fructueuse pour cette espèce (Némoz & Bertrand, 2008) et de nouveaux essais seraient éthiquement questionnables. En effet, le prélèvement d'individus dans la nature risquerait d'aggraver le statut de conservation du desman des Pyrénées en conduisant à des déclins locaux de populations, sans aucune garantie de succès de pouvoir les renforcer par la suite. D'autres mesures telles que la translocation d'individus (i.e. déplacement assisté visant à renforcer les populations locales ou créer de nouveaux noyaux de populations dans l'aire de répartition historique) pourraient être envisagées mais offrent également des perspectives incertaines. Ces méthodes actuellement populaires (Seddon *et al.*, 2014) ne pourraient être mises en œuvre qu'à la condition que les causes de la régression historique du desman des Pyrénées dans ces « nouveaux » habitats ne soient plus présentes. De plus, ces habitats devraient être optimaux en termes de paramètres abiotiques et biotiques pour la persistance à long terme de l'espèce. Une adaptation des populations de desman des Pyrénées à leur environnement local pourrait mettre en échec d'éventuelles mesures de translocation dans de nouveaux habitats où elles ne sauraient s'adapter. Il faut également noter que de telles mesures sont compliquées par la nécessité de tenir compte de l'histoire évolutive des individus déplacés. En effet, les populations peuvent nécessiter une gestion propre afin de conserver

le patrimoine génétique et les adaptations locales des populations (e.g. Delibes-Mateos *et al.*, 2008 ; Weeks *et al.*, 2011). Enfin, la translocation d'individus nécessite de nombreuses années de suivis pour déterminer son efficacité (Fischer & Lindenmayer, 2000 ; Germano & Bishop, 2009). Cette mesure de gestion ne semble donc pas à l'heure actuelle une solution adaptée pour la gestion du desman des Pyrénées étant donné les connaissances encore trop limitées sur les causes de son déclin et sur sa dynamique de population. Prioriser le maintien ou la restauration des corridors écologiques naturels semble plus raisonnable pour favoriser une recolonisation naturelle du desman des Pyrénées dans les zones où il a disparu.

La propagation de pathogènes pourrait également jouer un rôle dans la survie des populations de desman des Pyrénées. On observe par exemple actuellement un déclin rapide et très important des populations d'amphibiens dans le monde en raison d'une maladie décrite tardivement causée par le champignon *Batrachochytrium dendrobatidis* (Skerratt *et al.*, 2007) spécifique aux amphibiens, qui s'est rapidement propagé et est également présent dans les Pyrénées (e.g. Walker *et al.*, 2010 ; Courtois *et al.*, 2017). L'existence de pathogènes du desman des Pyrénées qui n'auraient pas encore été identifiés n'est pas exclue. D'autre part, peu de connaissances sont disponibles sur les parasites du desman des Pyrénées (e.g. communauté de vers du système digestif peu diversifiée et présente en faible densité ; Timon-David, 1960 ; Alvarez *et al.*, 1994) et les risques qu'ils posent à la persistance des populations. Néanmoins, les autopsies menées dans le cadre du PNAD et du LIFE+ Desman ne semblent pas pour l'instant indiquer que des maladies infectieuses ou que des parasites soient à l'origine de la trentaine de cadavres expertisés (Fournier-Chambrillon *et al.*, 2012 ; GREGE, 2012 ; Fournier-Chambrillon, 2016 ; Figure 8-6). Les morsures par des carnivores sont les causes les plus fréquentes de décès des individus. Ces carnivores incluent des carnivores domestiques (e.g. chiens, chats) dont l'impact sur les populations de desman des Pyrénées vivant à proximité des zones rurales et urbaines reste peu connu.

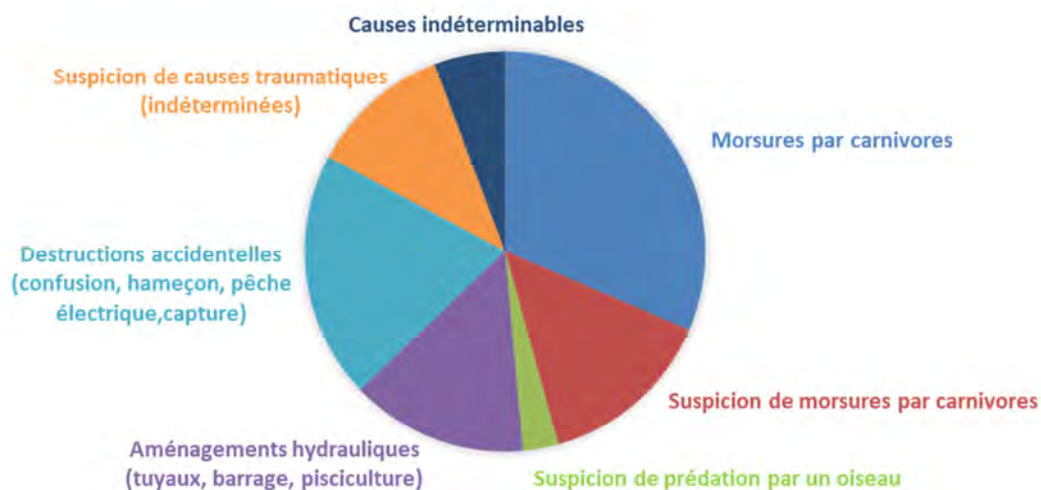


Figure 8-6 : Causes de mortalité de desmans des Pyrénées autopsiés dans le cadre du PNAD et du projet LIFE+ Desman par le GREGE (n=35, d'après M. Némot, CEN-MP, comm.pers. ; Fournier-Chambrillon et al., 2012 ; Fournier-Chambrillon, 2016).

Malgré l'attention toute particulière portée au desman des Pyrénées et l'avancée importante des connaissances sur son écologie, son comportement, ses rythmes d'activité et la génétique de ses populations au cours des dernières années, de nombreuses zones d'ombre persistent et fournissent matière à poursuivre les études sur l'espèce. Il faut espérer que tous ces efforts, renforcés par les collaborations nombreuses entre chercheurs et gestionnaires, mais également transfrontalières, ainsi que les campagnes de sensibilisation lancées auprès du grand public, pourront rapidement mener au ralentissement du déclin des populations de desman des Pyrénées.

Annexe A1.— Variables de chimie de l’eau mesurées sur les 65 sites d’échantillonnage de fèces de desman des Pyrénées et de crossope aquatiques dans le département de l’Ariège. Le symbole * identifie les variables qui ont été prises en compte dans les analyses du chapitre 3. Les ions Nitrite et Bromure n’ont pas été détectés dans les échantillons d’eau.

Variables	Unité	Moyenne	Minimum	Maximum
Carbone Organique Dissous (COD)*	mg/L C	1.25 ± 1.43	0.29	9.49
PTOT	µg/L P	68.25 ± 102.37	4	782
Alcalinité	mgHCO ₃ /L	79.90 ± 49.45	9.8	231.8
Chlorure	mg/L Cl ⁻	1.33 ± 0.93	0.32	4.33
Nitrate*	mg/L N-NO ₃ ⁻	0.34 ± 0.17	0.12	0.96
Nitrite	mg/L N-NO ₂ ⁻	-	-	-
Bromure	mg/L Br ⁻	-	-	-
Sulfate	mg/L S-SO ₄ ²⁻	6.88 ± 13.06	0.25	92.73
Phosphate*	mg/L P-PO ₄ ³⁻	0.01 ± 0.01	0	0.07
Sodium	mg/L Na ⁺	2.08 ± 1.33	0.51	6.73
Ammonium*	mg/L N-NH ₄ ⁺	0.01 ± 0.00	0.01	0.02
Potassium	mg/L K ⁺	0.75 ± 0.42	0.22	1.91
Magnésium	mg/L Mg ²⁺	4.11 ± 4.93	0.41	32.42
Calcium	mg/L Ca ²⁺	27.09 ± 20.10	2.14	129.27
Fluorure	mg/L F ⁻	0.05 ± 0.02	0.03	0.15
pH	-	7.13 ± 0.49	5.78	7.8
Conductivité*	µS	190.19 ± 132.31	12.53	739.32
Oxygène dissous	mg/L	105.90 ± 5.32	92.23	118.98

Références bibliographiques

- Aars, J., Lambin, X., Denny, R., & Griffin, A.C. (2001) Water vole in the Scottish uplands: distribution patterns of disturbed and pristine populations ahead and behind the American mink invasion front. *Animal Conservation*, **4**, 187–194.
- Abell, R., Allan, J.D., & Lehner, B. (2007) Unlocking the potential of protected areas for freshwaters. *Biological Conservation*, **134**, 48–63.
- Adrián Dossío, M.I., Martínez de Azcoitia, R.A., Costa Pérez, J., Castro, A., & Domínguez de Lucio, J.F. (1988) Distribución y alimentación de la nutria (*Lutra lutra*) en la provincia de León. *Tierras de León: Revista de la Diputación Provincial*, **70**, 121–131.
- Ahola, M., Nordström, M., Banks, P.B., Laanetu, N., & Korpimäki, E. (2006) Alien mink predation induces prolonged declines in archipelago amphibians. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **273**, 1261–1265.
- Allan, J.D., Abell, R., Hogan, Z., Revenga, C., Taylor, B.W., Welcomme, R.L., & Winemiller, K. (2005) Overfishing of inland waters. *BioScience*, **55**, 1041–1051.
- Allan, J.D. & Castillo, M.M. (2007) Stream Ecology : Structure and function of running waters. Springer Science & Business Media. 436p.
- Allan, J.D. & Flecker, A.S. (1993) Biodiversity conservation in running waters. *BioScience*, **43**, 32–43.
- Alvarez, F., Gijón-Botella, H., Quinteiro, P., Rey, J., López-Román, F., & Sanmartiín, M.L. (1994) *Paracuaría hispanica* n. sp. (Nematoda: Acuariidae), a stomach parasite of the pyrenean desman *Galemys pyrenaicus* Geoffr. (Insectivora: Talpidae), with a redefinition of the genus *Paracuaría* Rao, 1951. *Systematic Parasitology*, **29**, 105–112.
- Anastácio, P.M., Banha, F., Capinha, C., Bernardo, J.M., Costa, A.M., Teixeira, A., & Bruxelas, S. (2015) Indicators of movement and space use for two co-occurring invasive crayfish species. *Ecological Indicators*, **53**, 171–181.
- André, A., Mouton, A., Millien, V., & Michaux, J. (2017) Liver microbiome of *Peromyscus leucopus*, a key reservoir host species for emerging infectious diseases in North America. *Infection, Genetics and Evolution*, **52**, 10–18.
- Aparicio, E., Vargas, M.J., Olmo, J.M., & de Sostoa, A. (2000) Decline of native freshwater fishes in a Mediterranean watershed on the Iberian Peninsula: a quantitative assessment. *Environmental Biology of Fishes*, **59**, 11–19.
- de Araújo, C.B., Marcondes-Machado, L.O., & Costa, G.C. (2014) The importance of biotic interactions in species distribution models: a test of the Eltonian noise hypothesis using parrots. *Journal of Biogeography*, **41**, 513–523.
- Araújo, M.B. & Luoto, M. (2007) The importance of biotic interactions for modelling species distributions under climate change. *Global Ecology and Biogeography*, **16**, 743–753.

- Aronson, J., Clewell, A.F., Blignaut, J.N., & Milton, S.J. (2006) Ecological restoration: a new frontier for nature conservation and economics. *Journal for Nature Conservation*, **14**, 135–139.
- Arroita, M., Flores, L., Larrañaga, A., Martínez, A., Martínez-Santos, M., Pereda, O., Ruiz-Romera, E., Solagaistua, L. & Elosegi, A. (2017) Water abstraction impacts stream ecosystem functioning via wetted-channel contraction. *Freshwater Biology*, **62**, 243–257.
- Aymerich, P. (2004) Els micromamífers semiaquàtics d'Andorra: distribució i estat de conservació. *Habitats*, **9**, 26–34.
- Aymerich, P. & Gosálbez, J. (2002) Factors de distribució de *Galemys pyrenaicus* (Insectívora, Talpidae) a Catalunya. *Orsis*, **17**, 21–35.
- Aymerich, P. & Gosálbez, J. (2004) La prospección de excrementos como metodología para el estudio de la distribución de los musgaños (*Neomys* sp.). *Galemys*, **16**, 83–90.
- Aymerich, P. & Gosálbez, J. (2014) El desmán ibérico *Galemys pyrenaicus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) en los Pirineos meridionales. *Munibe Monographs. Nature Series*, **3**, 37–77.
- Azimi, S. & Rocher, V. (2016) Influence of the water quality improvement on fish population in the Seine River (Paris, France) over the 1990–2013 period. *Science of The Total Environment*, **542**, 955–964.
- Baglinière, J.L. & Maisse, G. (1991) La truite. Biologie et écologie. Editions Quae INRA. 304p.
- Balestrieri, A., Remonti, L., & Prigioni, C. (2009) Habitat selection in a low-density badger *Meles meles* population: a comparison of radio-tracking and latrine surveys. *Wildlife Biology*, **15**, 442–448.
- Banks, P.B., Norrdahl, K., Nordström, M., & Korpimäki, E. (2004) Dynamic impacts of feral mink predation on vole metapopulations in the outer archipelago of the Baltic Sea. *Oikos*, **105**, 79–88.
- Baran, P., Delacoste, M., Dauba, F., Lascaux, J.-M., Belaud, A., & Lek, S. (1995) Effects of reduced flow on brown trout (*Salmo trutta* L.) populations downstream dams in French Pyrenees. *Regulated Rivers: Research & Management*, **10**, 347–361.
- Barbet-Massin, M. & Jiguet, F. (2011) Back from a predicted climatic extinction of an island endemic: a future for the Corsican Nuthatch. *PLOS ONE*, **6**, e18228.
- Barbosa, A.M., Real, R., & Vargas, J.M. (2009) Transferability of environmental favourability models in geographic space: the case of the Iberian desman (*Galemys pyrenaicus*) in Portugal and Spain. *Ecological Modelling*, **220**, 747–754.
- Barneix, M. & Gigot, G. (2013) Listes rouges des espèces menacées et enjeux de conservation : Etude prospective pour la valorisation des Listes rouges régionales – Propositions méthodologiques. SPN-MNHN, Paris. 63p.
- Barnosky, A.D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G.O.U., Swartz, B., Quental, T.B., Marshall, C., McGuire, J.L., Lindsey, E.L., Maguire, K.C., Mersey, B., & Ferrer, E.A. (2011) Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature*, **471**, 51–57.

- Barreto, G.R., Rushton, S.P., Strachan, R., & Macdonald, D.W. (1998) The role of habitat and mink predation in determining the status and distribution of water voles in England. *Animal Conservation*, **1**, 129–137.
- Bartoszewicz, M. & Zalewski, A. (2003) American mink, *Mustela vison* diet and predation on waterfowl in the Slonsk Reserve, western Poland. *Folia Zoologica*, **52**, 225–238.
- Bateman, B.L., VanDerWal, J., Williams, S.E., & Johnson, C.N. (2012) Biotic interactions influence the projected distribution of a specialist mammal under climate change. *Diversity and Distributions*, **18**, 861–872.
- Bauduin, S., Cassaing, J., Issam, M., & Martin, C. (2013) Interactions between the short-tailed mouse (*Mus spretus*) and the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*): diet overlap revealed by stable isotopes. *Canadian Journal of Zoology*, **91**, 102–109.
- Bearzi, G., Politi, E., Agazzi, S., & Azzellino, A. (2006) Prey depletion caused by overfishing and the decline of marine megafauna in eastern Ionian Sea coastal waters (central Mediterranean). *Biological Conservation*, **127**, 373–382.
- Benejam, L., Angermeier, P.L., Munné, A., & García-Berthou, E. (2010a) Assessing effects of water abstraction on fish assemblages in Mediterranean streams. *Freshwater Biology*, **55**, 628–642.
- Benejam, L., Benito, J., & García-Berthou, E. (2010b) Decreases in condition and fecundity of freshwater fishes in a highly polluted reservoir. *Water, Air, & Soil Pollution*, **210**, 231–242.
- Benejam, L., Saura-Mas, S., Bardina, M., Solà, C., Munné, A., & García-Berthou, E. (2016) Ecological impacts of small hydropower plants on headwater stream fish: from individual to community effects. *Ecology of Freshwater Fish*, **25**, 295–306.
- Benstead, J.P., Barnes, K.H., & Pringle, C.M. (2001) Diet, activity patterns, foraging movement and responses to deforestation of the aquatic tenrec *Limnogale mergulus* (Lipotyphla: Tenrecidae) in eastern Madagascar. *Journal of Zoology*, **254**, 119–129.
- Berenzen, N., Schulz, R., & Liess, M. (2001) Effects of chronic ammonium and nitrite contamination on the macroinvertebrate community in running water microcosms. *Water Research*, **35**, 3478–3482.
- Bergerot, B., Lasne, E., Vigneron, T., & Laffaille, P. (2008) Prioritization of fish assemblages with a view to conservation and restoration on a large scale European basin, the Loire (France). *Biodiversity and Conservation*, **17**, 2247–2262.
- Bertrand, A. (1994) Répartition géographique et écologie alimentaire du desman des Pyrénées, *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) dans les Pyrénées françaises. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, 50p.
- Biffi, M., Charbonnel, A., Buisson, L., Blanc, F., Némot, M., & Laffaille, P. (2016) Spatial differences across the French Pyrenees in the use of local habitat by the endangered semi-aquatic Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **26**, 761–774.
- Bonesi, L., Chanin, P., & Macdonald, D.W. (2004) Competition between Eurasian otter *Lutra lutra* and American mink *Mustela vison* probed by niche shift. *Oikos*, **106**, 19–26.

- Bonesi, L. & Macdonald, D.W. (2004a) Impact of released Eurasian otters on a population of American mink: a test using an experimental approach. *Oikos*, **106**, 9–18.
- Bonesi, L. & Macdonald, D.W. (2004b) Differential habitat use promotes sustainable coexistence between the specialist otter and the generalist mink. *Oikos*, **106**, 509–519.
- Bonesi, L. & Palazón, S. (2007) The American mink in Europe: status, impacts, and control. *Biological Conservation*, **134**, 470–483.
- Bonesi, L., Strachan, R., & Macdonald, D.W. (2006) Why are there fewer signs of mink in England? Considering multiple hypotheses. *Biological Conservation*, **130**, 268–277.
- Borrell, A. (2012) Statut et lutte contre une espèce exotique envahissante : le Vison d'Amérique *Neovison vison* en Midi-Pyrénées. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome. AgroCampus Angers/Fédération Régionale des Chasseurs de Midi-Pyrénées (FRC). 103p.
- Borrell, A. & Saint-Hilaire, K. (2012) La situation du vison d'Amérique en Midi-Pyrénées - Résultat d'une enquête régionale de la Fédération Régionale des Chasseurs de Midi-Pyrénées réalisée en 2012. <http://www.frc-midipyrenees.fr/Situation-du-Vison-d-Amerique-en/>. [Accès 12 septembre 2014].
- Boulangeat, I., Gravel, D., & Thuiller, W. (2012) Accounting for dispersal and biotic interactions to disentangle the drivers of species distributions and their abundances. *Ecology Letters*, **15**, 584–593.
- Boulton, A.J., Ekeboom, J., & Gíslason, G. (2016) Integrating ecosystem services into conservation strategies for freshwater and marine habitats: a review. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **26**, 963–985.
- Brito, D., Ambal, R.G., Brooks, T., Silva, N.D., Foster, M., Hao, W., Hilton-Taylor, C., Paglia, A., Rodríguez, J.P., & Rodríguez, J.V. (2010) How similar are national red lists and the IUCN Red List? *Biological Conservation*, **143**, 1154–1158.
- Brown, D.S., Burger, R., Cole, N., Vencatasamy, D., Clare, E.L., Montazam, A., & Symondson, W.O.C. (2014) Dietary competition between the alien Asian Musk Shrew (*Suncus murinus*) and a re-introduced population of Telfair's Skink (*Leiolopisma telfairii*). *Molecular Ecology*, **23**, 3695–3705.
- Bryce, R., Oliver, M.K., Davies, L., Gray, H., Urquhart, J., & Lambin, X. (2011) Turning back the tide of American mink invasion at an unprecedented scale through community participation and adaptive management. *Biological Conservation*, **144**, 575–583.
- Brzeziński, M. (2008) Food habits of the American mink *Mustela vison* in the Mazurian Lakeland, Northeastern Poland. *Mammalian Biology*, **73**, 177–188.
- Brzeziński, M., Romanowski, J., Żmihorski, M., & Karpowicz, K. (2010) Muskrat (*Ondatra zibethicus*) decline after the expansion of American mink (*Neovison vison*) in Poland. *European Journal of Wildlife Research*, **56**, 341–348.
- Bueno, F. (1996) Competition between American mink *Mustela vison* and otter *Lutra lutra* during winter. *Acta Theriologica*, **41**, 149–154.

- Buisson, L., Thuiller, W., Casajus, N., Lek, S., & Grenouillet, G. (2010) Uncertainty in ensemble forecasting of species distribution. *Global Change Biology*, **16**, 1145–1157.
- Butchart, S.H.M., Walpole, M., Collen, B., *et al.* (2010) Global biodiversity: indicators of recent declines. *Science*, **328**, 1164–1168.
- Callejo, A. & Delibes, M. (1987) Dieta de la nutria *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) en la cuenca del alto Ebro, norte de España. *Miscelánea Zoológica*, **11**, 353–362.
- Camargo, J.A. & Alonso, Á. (2006) Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. *Environment International*, **32**, 831–849.
- Cantoni, D. (1993) Social and spatial organization of free-ranging shrews, *Sorex coronatus* and *Neomys fodiens* (Insectivora, Mammalia). *Animal Behaviour*, **45**, 975–995.
- Castién, E. & Gosálbez, J. (1992) Distribucion geographica y habitats ocupados por *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) (Insectivora: Talpidae) en los Pireneos occidentales. *Doñana. Acta vertebrata*, **19**, 37–44.
- Castién, E. & Gosálbez, J. (1995) Diet of *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) in the north of the Iberian peninsula. *Netherlands Journal of Zoology*, **45**, 422–430.
- Castién, E. & Gosálbez, J. (1999) Habitat and food preferences in a guild of insectivorous mammals in the Western Pyrenees. *Acta Theriologica*, **44**, 1–13.
- Ceballos, G., Ehrlich, P.R., Barnosky, A.D., García, A., Pringle, R.M., & Palmer, T.M. (2015) Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. *Science Advances*, **1**, e1400253.
- Centeno-Cuadros, A., Román, J., Delibes, M., & Godoy, J.A. (2011) Prisoners in their habitat? Generalist dispersal by habitat specialists: a case study in Southern water vole (*Arvicola sapidus*). *PLOS ONE*, **6**, e24613.
- Chadès, I., Curtis, J.M.R., & Martin, T.G. (2012) Setting realistic recovery targets for two interacting endangered species, sea otter and northern abalone. *Conservation Biology*, **26**, 1016–1025.
- Charbonnel, A. (2015) Influence multi-échelle des facteurs environnementaux dans la répartition du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) en France. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, 245p.
- Charbonnel, A., Buisson, L., Biffi, M., D'Amico, F., Besnard, A., Aulagnier, S., Blanc, F., Gillet, F., Lacaze, V., Michaux, J.R., Némot, M., Pagé, C., Sanchez-Perez, J.M., Sauvage, S., & Laffaille, P. (2015) Integrating hydrological features and genetically validated occurrence data in occupancy modelling of an endemic and endangered semi-aquatic mammal, *Galemys pyrenaicus*, in a Pyrenean catchment. *Biological Conservation*, **184**, 182–192.
- Charbonnel, A., D'Amico, F., Besnard, A., Blanc, F., Buisson, L., Némot, M., & Laffaille, P. (2014) Spatial replicates as an alternative to temporal replicates for occupancy modelling when surveys are based on linear features of the landscape. *Journal of Applied Ecology*, **51**, 1425–1433.
- Charbonnel, A., Laffaille, P., Biffi, M., Blanc, F., Maire, A., Némot, M., Sanchez-Perez, J.M., Sauvage, S., & Buisson, L. (2016) Can recent global changes explain the dramatic range contraction of

- an endangered semi-aquatic mammal species in the French Pyrenees? *PLOS ONE*, **11**, e0159941.
- Cheng, S.-T., Herricks, E.E., Tsai, W.-P., & Chang, F.-J. (2016) Assessing the natural and anthropogenic influences on basin-wide fish species richness. *Science of The Total Environment*, **572**, 825–836.
- Cho, Y.S., Hu, L., Hou, H., *et al.* (2013) The tiger genome and comparative analysis with lion and snow leopard genomes. *Nature Communications*, **4**, ncomms3433.
- Churchfield, S. (1984a) An investigation of the population ecology of syntopic shrews inhabiting water-cress beds. *J. Zool. Lond.*, **204**, 229–240.
- Churchfield, S. (1984b) Dietary separation in three species of shrew inhabiting water-cress beds. *Journal of Zoology*, **204**, 211–228.
- Churchfield, S. (1985) The feeding ecology of the European water shrew. *Mammal Review*, **15**, 13–21.
- Churchfield, S., Nesterenko, V.A., & Shvarts, E.A. (1999) Food niche overlap and ecological separation amongst six species of coexisting forest shrews (Insectivora: Soricidae) in the Russian Far East. *Journal of Zoology*, **248**, 349–359.
- Churchfield, S. & Rychlik, L. (2006) Diets and coexistence in *Neomys* and *Sorex* shrews in Białowieża forest, eastern Poland. *Journal of Zoology*, **269**, 381–390.
- Clavero, M. & García-Berthou, E. (2005) Invasive species are a leading cause of animal extinctions. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 110.
- Clavero, M., Prenda, J., & Delibes, M. (2003) Trophic diversity of the otter (*Lutra lutra* L.) in temperate and Mediterranean freshwater habitats. *Journal of Biogeography*, **30**, 761–769.
- Clode, D. & Macdonald, D.W. (1995) Evidence for food competition between mink (*Mustela vison*) and otter (*Lutra lutra*) on Scottish islands. *Journal of Zoology*, **237**, 435–444.
- Clode, D. & Macdonald, D.W. (2002) Invasive predators and the conservation of island birds: the case of American mink *Mustela vison* and terns *Sterna* spp. in the Western Isles, Scotland: colonies were larger and breeding success lower in mink-inhabited areas. *Bird Study*, **49**, 118–123.
- Cogălniceanu, D., Márquez, R., & Beltrán, J.F. (2010) Impact of otter (*Lutra lutra*) predation on amphibians in temporary ponds in Southern Spain. *Acta Herpetologica*, **5**, 217–222.
- Collares-Pereira, M.J. & Cowx, I.G. (2004) The role of catchment scale environmental management in freshwater fish conservation. *Fisheries Management and Ecology*, **11**, 303–312.
- Collen, B., Whitton, F., Dyer, E.E., Baillie, J.E.M., Cumberlidge, N., Darwall, W.R.T., Pollock, C., Richman, N.I., Soulsby, A.-M., & Böhm, M. (2014) Global patterns of freshwater species diversity, threat and endemism. *Global Ecology and Biogeography*, **23**, 40–51.
- Colléony, A., Clayton, S., Couvet, D., Saint Jalme, M., & Prévot, A.-C. (2017) Human preferences for species conservation: animal charisma trumps endangered status. *Biological Conservation*, **206**, 263–269.

- Comte, L., Buisson, L., Daufresne, M., & Grenouillet, G. (2013) Climate-induced changes in the distribution of freshwater fish: observed and predicted trends. *Freshwater Biology*, **58**, 625–639.
- Costa, A., Salvidio, S., Posillico, M., Matteucci, G., De Cinti, B., & Romano, A. (2015) Generalisation within specialization: inter-individual diet variation in the only specialized salamander in the world. *Scientific Reports*, **5**, 13260.
- Coulon, F. (2016) Étude de la répartition spatio-temporelle du Vison d'Amérique (*Neovison vison*) dans la vallée de Nohèdes : mise en place de campagnes de régulation et prémices d'évaluation de son impact sur les populations proies, dont le desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*). Site Natura 2000 « Massif du Madres-Coronat ». Rapport de Stage de Master. Université de Perpignan Via Domitia/ Fédération des Réserves Naturelles Catalanes. 42p.
- Courtois, E.A., Loyau, A., Bourgoïn, M., & Schmeller, D.S. (2017) Initiation of *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in the absence of physical contact with infected hosts – a field study in a high altitude lake. *Oikos*, **126**, 843–851.
- Cucherousset, J. & Olden, J.D. (2011) Ecological impacts of non-native freshwater fishes. *Fisheries*, **36**, 215–230.
- Daufresne, M., Lengfellner, K., & Sommer, U. (2009) Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **106**, 12788–12793.
- Delibes-Mateos, M., Ramírez, E., Ferreras, P., & Villafuerte, R. (2008) Translocations as a risk for the conservation of European wild rabbit *Oryctolagus cuniculus* lineages. *Oryx*, **42**, 259–264.
- Dewson, Z.S., James, A.B.W., & Death, R.G. (2007a) A review of the consequences of decreased flow for instream habitat and macroinvertebrates. *Journal of the North American Benthological Society*, **26**, 401–415.
- Dewson, Z.S., James, A.B.W., & Death, R.G. (2007b) Stream ecosystem functioning under reduced flow conditions. *Ecological Applications*, **17**, 1797–1808.
- Domisch, S., Araújo, M.B., Bonada, N., Pauls, S.U., Jähnig, S.C., & Haase, P. (2013) Modelling distribution in European stream macroinvertebrates under future climates. *Global Change Biology*, **19**, 752–762.
- Downes, B.J., Lake, P. s., & Schreiber, E. s. g. (1993) Spatial variation in the distribution of stream invertebrates: implications of patchiness for models of community organization. *Freshwater Biology*, **30**, 119–132.
- Duan, Z., Zhu, L., Zhu, L., Kun, Y., & Zhu, X. (2008) Individual and joint toxic effects of pentachlorophenol and bisphenol A on the development of zebrafish (*Danio rerio*) embryo. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **71**, 774–780.
- Dudgeon, D., Arthington, A.H., Gessner, M.O., Kawabata, Z.-I., Knowler, D.J., Lévêque, C., Naiman, R.J., Prieur-Richard, A.-H., Soto, D., Stiassny, M.L.J., & Sullivan, C.A. (2006) Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, **81**, 163–182.

- DuPasquier, A. & Cantoni, D. (1992) Shifts in benthic macroinvertebrate community and food habits of water shrew, *Neomys fodiens* (Soricidae, Insectivora). *Acta Œcologica*, **13**, 81–99.
- Elith, J. & Leathwick, J.R. (2009) Species distribution models: ecological explanation and prediction across space and time. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **40**, 677–697.
- Escarpinati, S.C., Siqueira, T., Medina-Jr, P.B., & Roque, F. de O. (2014) Short-term effects of visitor trampling on macroinvertebrates in karst streams in an ecotourism region. *Environmental Monitoring and Assessment*, **186**, 1655–1663.
- Escoda, L., González-Esteban, J., Gómez, A., & Castresana, J. (2017) Using relatedness networks to infer contemporary dispersal: application to the endangered mammal *Galemys pyrenaicus*. *Molecular Ecology*, **26**, 3343–3357.
- Evans, D.J., Gibson, C.E., & Rossell, R.S. (2006) Sediment loads and sources in heavily modified Irish catchments: a move towards informed management strategies. *Geomorphology*, **79**, 93–113.
- Fancourt, B.A. (2016) Diagnosing species decline: a contextual review of threats, causes and future directions for management and conservation of the eastern quoll. *Wildlife Research*, **43**, 197–211.
- Feio, M.J., Alves, T., Boavida, M., Medeiros, A., & Graça, M.A.S. (2010) Functional indicators of stream health: a river-basin approach. *Freshwater Biology*, **55**, 1050–1065.
- Fernandes, M., Herrero, J., Aulagnier, S., & Amori, G. (2008) *Galemys pyrenaicus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T8826A12934876. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T8826A12934876.en>. [Accès 1 Juin 2014]
- Fernández-Gil, A., Naves, J., Ordiz, A., Quevedo, M., Revilla, E., & Delibes, M. (2016) Conflict misleads large carnivore management and conservation: brown bears and wolves in Spain. *PLOS ONE*, **11**, e0151541.
- Fernández-López, J., Fernández-González, Á., & Fernández-Menéndez, D. (2014) Confirmación de la depredación de nutria paleártica *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) sobre desmán ibérico *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) mediante el empleo de técnicas moleculares. *Galemys*, **26**, 96–99.
- Ferrer, M. & Negro, J.J. (2004) The near extinction of two large european predators: super specialists pay a price. *Conservation Biology*, **18**, 344–349.
- Filipe, A.F., Marques, T.A., Tiago, P., Ribeiro, F., Da Costa, L.M., Cowx, I.G., & Collares-Pereira, M.J. (2004) selection of priority areas for fish conservation in Guadiana River basin, Iberian Peninsula. *Conservation Biology*, **18**, 189–200.
- Fischer, J. & Lindenmayer, D.B. (2000) An assessment of the published results of animal relocations. *Biological Conservation*, **96**, 1–11.
- Fournier-Chambrillon, C. (2016) LIFE+ Desman - Action D3 - Collecte et autopsie de cadavres pour l'évaluation de la neutralisation des points noirs – Rapport 2016 GREGE. 19p.
- Fournier-Chambrillon, C., Fournier, P. & Steinmetz, J. (2014) Le vison d'Amérique. In: Ruys, T., Steinmetz, J. & Arthur, C.-P. (coords.) 2014. Atlas des Mammifères sauvages d'Aquitaine – Tome 5 – Les Carnivores. Cistude Nature & LPO Aquitaine. Edition C. Nature. 156p.

- Fournier-Chambrillon, C., Novella, C., Blanc, F., Bertrand, A., Llanes, P., Némot, M., Rieu, L., & Fournier, P. (2012) Plan National d'Actions en faveur du Desman des Pyrénées – Valorisation des spécimens découverts morts : objectifs, protocole et premiers résultats. Poster présenté au 35ème Colloque francophone de mammalogie “Les mammifères dans les écosystèmes aquatiques”, 10-21 octobre 2012, Arles (13).
- Galliez, M. & Fernandez, F.A.S. (2012) Spatial segregation between the water opossum *Chironectes minimus* and the water rat *Nectomys squamipes*: just competition avoidance or a conservation problem as well? *Mammalian Biology*, **77**, 447–450.
- Gandar, A., Jean, S., Canal, J., Marty-Gasset, N., Gilbert, F., & Laffaille, P. (2016) Multistress effects on goldfish (*Carassius auratus*) behavior and metabolism. *Environmental Science and Pollution Research*, **23**, 3184–3194.
- Gandar, A., Laffaille, P., Marty-Gasset, N., Viala, D., Molette, C., & Jean, S. (2017) Proteome response of fish under multiple stress exposure: effects of pesticide mixtures and temperature increase. *Aquatic Toxicology*, **184**, 61–77.
- Gangloff, M.M., Edgar, G.J., & Wilson, B. (2016) Imperilled species in aquatic ecosystems: emerging threats, management and future prognoses. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **26**, 858–871.
- García, P., Ayres, C., & Mateos, I. (2009a) Seasonal changes in American mink (*Neovison vison*) signs related to Eurasian otter (*Lutra lutra*) presence. *Mammalia*, **73**, 253–256.
- García, P., Lizana, M., Morales, J., Gutiérrez, J., Acera, F., Báez, R., García-González, A., Pérez-Alonso, J.C., Prieto, O., & Díez-Frontón, D. (2009b) Nuevos datos sobre la distribución y dieta de la nutria paleártica (*Lutra lutra*) en la provincia de Salamanca. *Ecología*, **22**, 117–125.
- García-Díaz, P., Arévalo, V., Vicente, R., & Lizana, M. (2013) The impact of the American mink (*Neovison vison*) on native vertebrates in mountainous streams in Central Spain. *European Journal of Wildlife Research*, **59**, 823–831.
- Gärdenfors, U. (2001) Classifying threatened species at national versus global levels. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 511–516.
- Gaston, K.J. (1998) Ecology: Rarity as double jeopardy. *Nature*, **394**, 229–230.
- Gehrke, P.C., Gilligan, D.M., & Barwick, M. (2002) Changes in fish communities of the Shoalhaven River 20 years after construction of Tallowa Dam, Australia. *River Research and Applications*, **18**, 265–286.
- Geist, J. (2011) Integrative freshwater ecology and biodiversity conservation. *Ecological Indicators*, **11**, 1507–1516.
- GEREA (2007) Deuxième plan national de restauration du vison d'Europe (*Mustela lutreola*) 2007 - 2011. GREA - DIREN Aquitaine. *Société Française pour l'Etude et la Protection des Mammifères/Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement Durable et de l'Aménagement du Territoire*, 119p.
- Germano, J.M. & Bishop, P.J. (2009) Suitability of amphibians and reptiles for translocation. *Conservation Biology*, **23**, 7–15.

- Gillet, F. (2015) Génétique et biologie de la conservation du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) en France. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse (France)/Université de Liège (Belgique), 228p.
- Gillet, F., Le Roux, B., Blanc, F., Bodo, A., Fournier-Chambrillon, C., Fournier, P., Jacob, F., Lacaze, V., Némot, M., Aulagnier, S., & Michaux, J.R. (2016) Genetic monitoring of the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) in the Aude River, France. *Belgian Journal of Zoology*, **146**, 44–52.
- Gillet, F., Tiouchichine, M.-L., Galan, M., Blanc, F., Némot, M., Aulagnier, S., & Michaux, J.R. (2015) A new method to identify the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) and to study its diet, using next generation sequencing from faeces. *Mammalian Biology*, **80**, 505–509.
- Ginebreda, A., Kuzmanovic, M., Guasch, H., de Alda, M.L., López-Doval, J.C., Muñoz, I., Ricart, M., Romani, A.M., Sabater, S., & Barceló, D. (2014) Assessment of multi-chemical pollution in aquatic ecosystems using toxic units: compound prioritization, mixture characterization and relationships with biological descriptors. *Science of The Total Environment*, **468**, 715–723.
- Gisbert, J. & García-Perea, R. (2014) Historia de la regresión del desmán ibérico *Galemys pyrenaicus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) en el Sistema Central (Península Ibérica). In : Conservation and management of semi-aquatic mammals of southwestern Europe. *Munibe Monographs. Nature Series*, **3**, 19–35.
- Glista, D.J., Devault, T.L., & Dewoody, J.A. (2007) Vertebrate road mortality predominantly impacts amphibians. *Herpetological Conservation and Biology*, **3**, 77–87.
- Gomes, R. (2011) La Loutre d'Europe. In: Jacquot, E. (coords.) 2011. Atlas des Mammifères sauvages de Midi-Pyrénées – Livret 3 – Carnivores. Coll. Atlas de Midi-Pyrénées. Edition Nature Midi-Pyrénées, 96p.
- Greenwood, A., Churchfield, S., & Hickey, C. (2002) Geographical distribution and habitat occurrence of the water shrew (*Neomys fodiens*) in the Weald of South-East England. *Mammal Review*, **32**, 40–50.
- GREGE (2012) Plan National d'Actions en faveur du Desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) 2010-2015 - Valorisation des spécimens découverts morts, années 2011-2012. Bilan au 1er aout 2012. 42p.
- Guirresse, M., Cambou, E., Collin Bellier, C., Denjean, A., Falba, P., Guigues, E., Mouclier, M., Muller, N., Nesling, E., Party, J.P., Rigou, L., Schneider, A., Toiser, A., Vauthier, Q., Yken, E., & Revel, J.C. (2014) Les Pêdo-paysages des plaines centrales de Midi-Pyrénées. *Etude et Gestion des Sols*, **21**, 77–84.
- Guisan, A. & Zimmermann, N.E. (2000) Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling*, **135**, 147–186.
- Haberl, W. (2002) Food storage, prey remains and notes on occasional vertebrates in the diet of the Eurasian water shrew, *Neomys fodiens*. *Folia Zoologica*, **51**, 93–102.
- Hannah, D.M., Brown, L.E., Milner, A.M., Gurnell, A.M., McGregor, G.R., Petts, G.E., Smith, B.P.G., & Snook, D.L. (2007) Integrating climate–hydrology–ecology for alpine river systems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **17**, 636–656.

- Hardiman, N. & Burgin, S. (2011) Effects of trampling on in-stream macroinvertebrate communities from canyoning activity in the Greater Blue Mountains World Heritage Area. *Wetlands Ecology and Management*, **19**, 61–71.
- Harrington, L.A. & Macdonald, D.W. (2008) Spatial and temporal relationships between invasive American mink and native European polecats in the southern United Kingdom. *Journal of Mammalogy*, **89**, 991–1000.
- Heikkinen, R.K., Luoto, M., Virkkala, R., Pearson, R.G., & Körber, J.-H. (2007) Biotic interactions improve prediction of boreal bird distributions at macro-scales. *Global Ecology and Biogeography*, **16**, 754–763.
- Heino, J., Virkkala, R., & Toivonen, H. (2009) Climate change and freshwater biodiversity: detected patterns, future trends and adaptations in northern regions. *Biological Reviews*, **84**, 39–54.
- Hernandez, A. (1988) Observaciones sobre la distribución, hábitat y comportamiento del topo de río *Galemys pyrenaicus* Geoffroy, 1811 en el Río Torío (León). *Misc. Zool.*, **12**, 386–389.
- Hof, A.R., Jansson, R., & Nilsson, C. (2012) How biotic interactions may alter future predictions of species distributions: future threats to the persistence of the arctic fox in Fennoscandia. *Diversity and Distributions*, **18**, 554–562.
- Hoffmann, M., Brooks, T.M., de Fonseca, G.A.B., Gaston, C., Hawkins, A.F.A., James, R.E., Langhammer, P., Mittermeier, R.A., Pilgrim, J.D., Rodrigues, A.S.L., & Silva, J.M.C. (2008) Conservation planning and the IUCN Red List. *Endangered Species Research*, **6**, 113–125.
- Hooda, P.S., Edwards, A.C., Anderson, H.A., & Miller, A. (2000) A review of water quality concerns in livestock farming areas. *Science of the total environment*, **250**, 143–167.
- Hussain, Q.A. & Pandit, A.K. (2012) Macroinvertebrates in streams: a review of some ecological factors. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, **4**, 114–123.
- Hutchinson, G.E. (1957) Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, **22**, 415–427.
- Hutterer, R., Meinig, H., Bertolino, S., Kryštufek, B., Sheftel, B., Stubbe, M., Samiya, R., Ariunbold, J., Buuveibaatar, V., Dorjderem, S., Monkhzul, T., Otgonbaatar, M., & Tsogbadrakh, M. (2016) *Neomys fodiens*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T29658A115170106. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T29658A22282586.en>. [Accès 1 Juin 2017].
- Igea, J., Aymerich, P., Fernández-González, A., González-Esteban, J., Gómez, A., Alonso, R., Gosálbez, J., & Castresana, J. (2013) Phylogeography and postglacial expansion of the endangered semi-aquatic mammal *Galemys pyrenaicus*. *BMC Evolutionary Biology*, **13**, 1–19.
- Ivlev, V.S. (1961) Experimental Ecology of Feeding Fishes. Yale University Press, New Haven, Connecticut, 302p.
- Jancke, S. & Giere, P. (2011) Patterns of otter *Lutra lutra* road mortality in a landscape abundant in lakes. *European Journal of Wildlife Research*, **57**, 373–381.
- Jeffress, M.R., Paukert, C.P., Sandercock, B.K., & Gipson, P.S. (2011) Factors affecting detectability of river otters during sign surveys. *The Journal of Wildlife Management*, **75**, 144–150.

- Johnson, R.C., Jin, H.-S., Carreiro, M.M., & Jack, J.D. (2013) Macroinvertebrate community structure, secondary production and trophic-level dynamics in urban streams affected by non-point-source pollution. *Freshwater Biology*, **58**, 843–857.
- Junk, W., Bayley, P.B., & Sparks, R.E. (1989) The flood pulse concept in river-floodplain systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **106**, 110–127.
- Keckel, M.R., Ansorge, H., & Stefen, C. (2014) Differences in the microhabitat preferences of *Neomys fodiens* (Pennant 1771) and *Neomys anomalus* Cabrera, 1907 in Saxony, Germany. *Acta Theriologica*, **59**, 485–494.
- Keller, L.F. & Waller, D.M. (2002) Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**, 230–241.
- Kibichii, S., Feeley, H.B., Baars, J.-R., & Kelly-Quinn, M. (2015) The influence of water quality on hyporheic invertebrate communities in agricultural catchments. *Marine and Freshwater Research*, **66**, 805–814.
- Kidd, K.A., Blanchfield, P.J., Mills, K.H., Palace, V.P., Evans, R.E., Lazorchak, J.M., & Flick, R.W. (2007) Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104**, 8897–8901.
- King, C.M., McDonald, R.M., Martin, R.D., & Dennis, T. (2009) Why is eradication of invasive mustelids so difficult? *Biological Conservation*, **142**, 806–816.
- Kissling, W.D., Dormann, C.F., Groeneveld, J., Hickler, T., Kühn, I., McInerney, G.J., Montoya, J.M., Römermann, C., Schiffrs, K., Schurr, F.M., Singer, A., Svenning, J.-C., Zimmermann, N.E., & O'Hara, R.B. (2012) Towards novel approaches to modelling biotic interactions in multispecies assemblages at large spatial extents. *Journal of Biogeography*, **39**, 2163–2178.
- Klare, U., Kamler, J.F., & Macdonald, D.W. (2011) A comparison and critique of different scat-analysis methods for determining carnivore diet. *Mammal Review*, **41**, 294–312.
- Kraus, J.M., Pomeranz, J.F., Todd, A.S., Walters, D.M., Schmidt, T.S., & Wanty, R.B. (2016) Aquatic pollution increases use of terrestrial prey subsidies by stream fish. *Journal of Applied Ecology*, **53**, 44–53.
- Krawczyk, A.J., Bogdziewicz, M., & Czyz, M.J. (2013) Diet of the American mink *Neovison vison* in an agricultural landscape in western Poland. *Folia Zoologica*, **62**, 303–309.
- Kuhn, R. (2009) Plan National d'Actions pour la Loutre d'Europe (*Lutra lutra*), 2010-2015. Société Française pour l'Etude et la Protection des Mammifères/Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement Durable et de la Mer. 110p.
- Laffaille, P. & Brosse, S. (2011) Ecologie de la conservation des poissons d'eau douce. In: Les poissons d'eau douce de France. Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris. Biotope: Mèze, France. 158-195.
- Lafontaine, L. & Liles, G. (2005) Exemples d'ouvrages aménagés en faveur de la loutre en France et en Europe : essai de synthèse et perspectives. Actes des 4èmes Rencontres « Routes et faune sauvage », Colloque SETRA / Ministère des Transports, Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, Chambéry, 21-22 septembre 2005, 24p.

- Lampa, S., Mihoub, J.-B., Gruber, B., Klenke, R., & Henle, K. (2015) Non-invasive genetic mark-recapture as a means to study population sizes and marking behaviour of the elusive Eurasian otter (*Lutra lutra*). *PLOS ONE*, **10**, e0125684.
- Lanszki, J., Széles, L.G., & Yoxon, G. (2009) Diet composition of otters (*Lutra lutra* L.) living on small watercourses in southwestern Hungary. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, **55**, 293–306.
- Lardet, J.-P. (1988) Spatial behaviour and activity patterns of the water shrew *Neomys fodiens* in the field. *Acta Theriologica*, **33**, 293–303.
- Lasne, E., Bergerot, B., Lek, S., & Laffaille, P. (2007a) Fish zonation and indicator species for the evaluation of the ecological status of rivers: example of the Loire basin (France). *River Research and Applications*, **23**, 877–890.
- Lasne, E., Lek, S., & Laffaille, P. (2007b) Patterns in fish assemblages in the Loire floodplain: The role of hydrological connectivity and implications for conservation. *Biological Conservation*, **139**, 258–268.
- Laurence, S., Smith, M.J., & Schulte-Hostedde, A.I. (2013) Effects of structural connectivity on fine scale population genetic structure of muskrat, *Ondatra zibethicus*. *Ecology and Evolution*, **3**, 3524–3535.
- Leach, K., Montgomery, W.I., & Reid, N. (2016) Modelling the influence of biotic factors on species distribution patterns. *Ecological Modelling*, **337**, 96–106.
- Lee, L.C., Watson, J.C., Trebilco, R., & Salomon, A.K. (2016) Indirect effects and prey behavior mediate interactions between an endangered prey and recovering predator. *Ecosphere*, **7**, 26p.
- Léger, F. & Ruetten, S. (2005) Le vison d'Amérique, une espèce qui se développe... Résultat d'une enquête nationale réalisée en 1999. *Faune Sauvage*, **266**, 29–36.
- Leuven, R.S.E.W. & Poudevigne, I. (2002) Riverine landscape dynamics and ecological risk assessment. *Freshwater Biology*, **47**, 845–865.
- Levenard, P., Yotte, A., Lacaze, V., de Sauverzac, L., Némot, M., Blanc, F., & Ouaza, B. (2017) Amélioration des potentialités d'accueil du desman des Pyrénées dans les tronçons pauvres de l'Hers vif (Fougax-et-Barrineuf, 09). Poster présenté au Colloque international de restitution du programme Life "Continuité écologique", 31 mai - 6 juin 2017, Beaune (21).
- Li, R., Fan, W., Tian, G., et al. (2010) The sequence and de novo assembly of the giant panda genome. *Nature*, **463**, 311–317.
- LIFE+ Desman (2013) Technical Application Forms – Conservation of the French populations of *Galemys pyrenaicus* and its populations on the French Pyrénées, (LIFE13 NAT/FR/000092). 274p.
- Lim, M. (2015) Étude de l'incidence des lâchers d'eau sur le comportement et la survie du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*), en période de reproduction par la méthode de suivi par radiopistage. Suivi sur l'Aston (Ariège) en aval du barrage de Riète, dans le cadre du projet LIFE+ Desman (action A4), coordonné par le Conservatoire d'espaces naturels de Midi-

Pyrénées. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome. INP-ENSAT/Conservatoire Midi-Pyrénées. 83p.

- Lodé, T., Cormier, J.-P., & Jacques, D.L. (2001) Decline in endangered species as an indication of anthropic pressures: the case of European mink *Mustela lutreola* western population. *Environmental Management*, **28**, 727–735.
- Lundy, M.G. & Montgomery, W.I. (2010) A multi-scale analysis of the habitat associations of European otter and American mink and the implications for farm scale conservation schemes. *Biodiversity and Conservation*, **19**, 3849–3859.
- Macdonald, D.W. & Harrington, L.A. (2003) The American mink: the triumph and tragedy of adaptation out of context. *New Zealand Journal of Zoology*, **30**, 421–441.
- Mace, G.M., Collar, N.J., Gaston, K.J., Hilton-Taylor, C., Akçakaya, H.R., Leader-Williams, N., Milner-Gulland, E. j., & Stuart, S.N. (2008) Quantification of extinction risk: IUCN's system for classifying threatened species. *Conservation Biology*, **22**, 1424–1442.
- MacKenzie, D.I., Bailey, L.L., & Nichols, J.D. (2004) Investigating species co-occurrence patterns when species are detected imperfectly. *Journal of Animal Ecology*, **73**, 546–555.
- Maire, A. (2014) Comment sélectionner les zones prioritaires pour la conservation et la restauration des communautés de poissons de rivière ? Applications aux échelles de la France et du Pas-de-Calais. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 265p.
- Maire, A., Buisson, L., Biau, S., Canal, J., & Laffaille, P. (2013) A multi-faceted framework of diversity for prioritizing the conservation of fish assemblages. *Ecological Indicators*, **34**, 450–459.
- Malavoi, J.R. & Souchon, Y. (2002) Description standardisée des principaux faciès d'écoulement observables en rivière : clé de détermination qualitative et mesures physiques. Note Technique. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, **365/366**, 357–372.
- Malmqvist, B. & Rundle, S. (2002) Threats to the running water ecosystems of the world. *Environmental Conservation*, **29**, 134–153.
- Mañas, S., Gómez, A., Palazón, S., Pödra, M., Minobis, B., Alarcia, O.E., Casal, J., & Ruiz-Olmo, J. (2016) Are we able to affect the population structure of an invasive species through culling? A case study of the attempts to control the American mink population in the Northern Iberian Peninsula. *Mammal Research*, **61**, 309–317.
- Maran, T., Kruuk, H., Macdonald, D.W., & Polma, M. (1998) Diet of two species of mink in Estonia: displacement of *Mustela lutreola* by *M. vison*. *Journal of Zoology*, **245**, 218–222.
- Maran, T., Skumatov, D., Gomez, A., Pödra, M., Abramov, A.V., & Dinets, V. (2016) *Mustela lutreola*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T14018A45199861. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T14018A45199861.en>. [Accès 21 décembre 2016].
- Marmion, M., Parviainen, M., Luoto, M., Heikkinen, R.K., & Thuiller, W. (2009) Evaluation of consensus methods in predictive species distribution modelling. *Diversity and Distributions*, **15**, 59–69.

- Marshall, K.N., Stier, A.C., Samhour, J.F., Kelly, R.P., & Ward, E.J. (2016) Conservation challenges of predator recovery. *Conservation Letters*, **9**, 70–78.
- Martínez, A., Larrañaga, A., Basaguren, A., Pérez, J., Mendoza-Lera, C., & Pozo, J. (2013) Stream regulation by small dams affects benthic macroinvertebrate communities: from structural changes to functional implications. *Hydrobiologia*, **711**, 31–42.
- Martínez-Jauregui, M., Linares, O., Carranza, J., & Soliño, M. (2017) Dealing with conflicts between people and colonizing native predator species. *Biological Conservation*, **209**, 239–244.
- Mate, I., Barrull, J., Gosálbez, J., Ruiz-Olmo, J., & Salicrú, M. (2015) The role of the Southern water vole *Arvicola sapidus* in the diet of predators: a review. *Mammal Review*, **45**, 30–40.
- McCallum, M.L. (2015) Vertebrate biodiversity losses point to a sixth mass extinction. *Biodiversity and Conservation*, **24**, 2497–2519.
- McDonald, R.A., O'Hara, K., & Morrish, D.J. (2007) Decline of invasive alien mink (*Mustela vison*) is concurrent with recovery of native otters (*Lutra lutra*). *Diversity and Distributions*, **13**, 92–98.
- Meineri, E., Skarpaas, O., & Vandvik, V. (2012) Modeling alpine plant distributions at the landscape scale: do biotic interactions matter? *Ecological Modelling*, **231**, 1–10.
- Melero, Y., Aymerich, P., Luque-Larena, J.J., & Gosálbez, J. (2012a) New insights into social and space use behaviour of the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*). *European Journal of Wildlife Research*, **58**, 185–193.
- Melero, Y., Aymerich, P., Santulli, G., & Gosálbez, J. (2014) Activity and space patterns of Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) suggest non-aggressive and non-territorial behaviour. *European Journal of Wildlife Research*, **60**, 707–715.
- Melero, Y., Palazón, S., Bonesi, L., & Gosálbez, J. (2010) Relative abundance of culled and not culled American mink populations in northeast Spain and their potential distribution: are culling campaigns effective? *Biological Invasions*, **12**, 3877–3885.
- Melero, Y., Plaza, M., Santulli, G., Saavedra, D., Gosálbez, J., Ruiz-Olmo, J., & Palazón, S. (2012b) Evaluating the effect of American mink, an alien invasive species, on the abundance of a native community: is coexistence possible? *Biodiversity and Conservation*, **21**, 1795–1809.
- Mendes-Soares, H. & Rychlik, L. (2009) Differences in swimming and diving abilities between two sympatric species of water shrews: *Neomys anomalus* and *Neomys fodiens* (Soricidae). *Journal of Ethology*, **27**, 317–325.
- Mesa, L.M., Lindt, I., Negro, L., Gutierrez, M.F., Mayora, G., Montalto, L., Ballent, M., & Lifschitz, A. (2017) Aquatic toxicity of ivermectin in cattle dung assessed using microcosms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **144**, 422–429.
- Mieza-Paez, E., Martínez-Martínez, D., Tarragó, A., Sanz, A.S., & Vera, J.N. (2016) Current situation and environmental factors affecting the distribution of *Emys orbicularis* in Sèquia Major (NE Iberian Peninsula) in syntopy with *Mauremys leprosa*. *Basic and Applied Herpetology*, **30**, 47–59.
- Milardi, M., Thomas, S.M., & Kahilainen, K.K. (2016) Reliance of brown trout on terrestrial prey varies with season but not fish density. *Freshwater Biology*, **61**, 1143–1156.

- Millennium Ecosystem Assessment (2005) Ecosystems and human well-being: biodiversity synthesis. World Resources Institute, Washington, DC. 100p.
- Miller, R.M., Rodríguez, J.P., Aniskowicz-Fowler, T., Bambaradeniya, C., Boles, R., Eaton, M.A., Gärdenfors, U., Keller, V., Molur, S., Walker, S., & Pollock, C. (2007) national threatened species listing based on IUCN criteria and regional guidelines: current status and future perspectives. *Conservation Biology*, **21**, 684–696.
- Mondy, C.P., Villeneuve, B., Archaimbault, V., & Usseglio-Polatera, P. (2012) A new macroinvertebrate-based multimetric index (I2M2) to evaluate ecological quality of French wadeable streams fulfilling the WFD demands: A taxonomical and trait approach. *Ecological Indicators*, **18**, 452–467.
- Morueta-Holme, N., Fløjgaard, C., & Svenning, J.-C. (2010) Climate change risks and conservation implications for a threatened small-range mammal species. *PLoS ONE*, **5**, e10360.
- Murgatroyd, M., Avery, G., Underhill, L.G., & Amar, A. (2016) Adaptability of a specialist predator: the effects of land use on diet diversification and breeding performance of Verreaux’s eagles. *Journal of Avian Biology*, **47**, 834–845.
- Muséum National d’Histoire Naturelle [Ed]. (2003-2017) Inventaire National du Patrimoine Naturel. <https://inpn.mnhn.fr>. [Accès 15 mai 2016].
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., & Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853–858.
- Némoz, M. & Bertrand, A. (2008) Plan national d’Actions en faveur du Desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*), 2010–2015. Société Française pour l’Etude et la Protection des Mammifères/Ministère de l’Ecologie, de l’Energie, du Développement Durable et de l’Aménagement du Territoire, 159.
- Nordström, M., Högmander, J., Laine, J., Nummelin, J., Laanetu, N., & Korpimäki, E. (2003) Effects of feral mink removal on seabirds, waders and passerines on small islands in the Baltic Sea. *Biological Conservation*, **109**, 359–368.
- Nores, C., Ojeda, F., Ruano, A., Villate, I., González, J., Cano, J.M., & García, E. (1998) Estimating the population density of *Galemys pyrenaicus* in four Spanish rivers. *Journal of Zoology*, **246**, 454–457.
- O’Grady, J.J., Brook, B.W., Reed, D.H., Ballou, J.D., Tonkyn, D.W., & Frankham, R. (2006) Realistic levels of inbreeding depression strongly affect extinction risk in wild populations. *Biological Conservation*, **133**, 42–51.
- Oliver, M.K., Piernney, S.B., Zalewski, A., Melero, Y., & Lambin, X. (2016) The compensatory potential of increased immigration following intensive American mink population control is diluted by male-biased dispersal. *Biological Invasions*, **18**, 3047–3061.
- Oliver, T.H., Isaac, N.J.B., August, T.A., Woodcock, B.A., Roy, D.B., & Bullock, J.M. (2015) Declining resilience of ecosystem functions under biodiversity loss. *Nature Communications*, **6**, ncomms10122.
- OPIE-Benthos (2017) Office Pour les Insectes et leur Environnement. <http://www.opie-benthos.fr/opie/insecte.php>. [Accès 15 mai 2016].

- Ormerod, S.J. (2014) Rebalancing the philosophy of river conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **24**, 147–152.
- Ortega-Argueta, A., Baxter, G., Hockings, M., & Guevara, R. (2017) Assessing the internal consistency of management plans for the recovery of threatened species. *Biodiversity and Conservation*, **26**, 2205–2222.
- Orth, D.J. & Maughan, E. (1983) Microhabitat preferences of benthic fauna in a woodland stream. *Hydrobiologia*, **106**, 157–168.
- Ottaviani, D., Panzacchi, M., Jona Lasinio, G., Genovesi, P., & Boitani, L. (2009) Modelling semi-aquatic vertebrates' distribution at the drainage basin scale: The case of the otter *Lutra lutra* in Italy. *Ecological Modelling*, **220**, 111–121.
- Pagé, C., Terray, L., & Boé, J. (2009) dsclim: a software package to downscale climate scenarios at regional scale using a weather-typing based statistical methodology. In: Technical Report TR/CMGC/09/21, SUC au CERFACS, URA CERFACS/CNRS No1875. Toulouse, France. 60p.
- Palazón, S., Melero, Y., Plaza, M., Santulli, G., García, K., Ruiz-Olmo, J., Pifarré, M., Minobis, B., & Gosálbez, J. (2016) Situation of feral American mink (*Neovison vison*) in Catalonia: expansion, distribution, ecology and population control. *Butlletí de la Institució Catalana d'Història Natural*, **80**, 145–154.
- Palazón, S., Ruiz-Olmo, J., & Gosálbez, J. (2008) Autumn-winter diet of three carnivores, European mink (*Mustela lutreola*), Eurasian otter (*Lutra lutra*) and small-spotted genet (*Genetta genetta*), in northern Spain. *Animal Biodiversity and Conservation*, **31**, 37–43.
- Pallottini, M., Cappelletti, D., Fabrizi, A., Gaino, E., Goretti, E., Selvaggi, R., & Céréghino, R. (2017) Macroinvertebrate functional trait responses to chemical pollution in agricultural–industrial landscapes. *River Research and Applications*, **4**, 505–513.
- Palmeirim, J.M. (1983) *Galemys pyrenaicus*. *Mammalian Species*, **207**, 1–5.
- Parry, G.S., Bodger, O., McDonald, R.A., & Forman, D.W. (2013) A systematic re-sampling approach to assess the probability of detecting otters *Lutra lutra* using spraint surveys on small lowland rivers. *Ecological Informatics*, **14**, 64–70.
- Parry, G.S., Yonow, N., & Forman, D. (2015) Predation of newts (Salamandridae, Pleurodelinae) by Eurasian otters *Lutra lutra* (Linnaeus). *The Herpetological Bulletin*, **132**, 9–14.
- Paul, M.J. & Meyer, J.L. (2001) Streams in the urban landscape. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **32**, 333–365.
- Pawar, S., Koo, M.S., Kelley, C., Ahmed, M.F., Chaudhuri, S., & Sarkar, S. (2007) Conservation assessment and prioritization of areas in Northeast India: priorities for amphibians and reptiles. *Biological Conservation*, **136**, 346–361.
- Pearson, R.G. (2016) Reasons to Conserve Nature. *Trends in Ecology & Evolution*, **31**, 366–371.
- Pearson, R.G. & Dawson, T.P. (2003) Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful? *Global Ecology and Biogeography*, **12**, 361–371.

- Pedroso, N.M. & Chora, S. (2014) The Iberian desman *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811) in Portugal: status and conservation. *Munibe Monographs. Nature Series*, **3**, 13–18.
- Pedroso, N.M., Marques, T.A., & Santos-Reis, M. (2014) The response of otters to environmental changes imposed by the construction of large dams. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **24**, 66–80.
- Pereira, H.M., Leadley, P.W., Proença, V., *et al.* (2010) Scenarios for Global Biodiversity in the 21st Century. *Science*, **330**, 1496–1501.
- Perkins, D.M., Reiss, J., Yvon-Durocher, G., & Woodward, G. (2010) Global change and food webs in running waters. *Hydrobiologia*, **657**, 181–198.
- Peterson, E.K. & Schulte, B.A. (2016) Impacts of pollutants on beavers and otters with implications for ecosystem ramifications. *Journal of Contemporary Water Research & Education*, **157**, 33–45.
- Peyre, A. (1956) Ecologie et biogéographie du desman (*Galemys pyrenaicus*) dans les Pyrénées françaises. *Mammalia*, **20**, 405–418.
- Pianka, E.R. (1973) The structure of lizard communities. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **4**, 53–74.
- Pianka, E.R. (1974) Niche overlap and diffuse competition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **71**, 2141–2145.
- Pimentel, D., Zuniga, R., & Morrison, D. (2005) Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics*, **52**, 273–288.
- Pimm, S.L., Jenkins, C.N., Abell, R., Brooks, T.M., Gittleman, J.L., Joppa, L.N., Raven, P.H., Roberts, C.M., & Sexton, J.O. (2014) The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection. *Science*, **344**, 1246752.
- Pödra, M., Gómez, A., & Palazón, S. (2013) Do American mink kill European mink? Cautionary message for future recovery efforts. *European Journal of Wildlife Research*, **59**, 431–440.
- Poff, N.L. (1997) Landscape filters and species traits: towards mechanistic understanding and prediction in stream ecology. *Journal of the North American Benthological Society*, **16**, 391–409.
- Pompanon, F., Deagle, B.E., Symondson, W.O.C., Brown, D.S., Jarman, S.N., & Taberlet, P. (2012) Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Molecular Ecology*, **21**, 1931–1950.
- Possingham, H.P., Andelman, S.J., Burgman, M.A., Medellín, R.A., Master, L.L., & Keith, D.A. (2002) Limits to the use of threatened species lists. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**, 503–507.
- Prado-Martinez, J., Sudmant, P.H., Kidd, J.M., *et al.* (2013) Great ape genetic diversity and population history. *Nature*, **499**, 471–475.
- Puisségur, C. (1935) Recherches sur le desman des Pyrénées. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, **67**, 163–227.

- Queiroz, A.I., Alvez, H., & Almada, V. (1993) The small hydroplants: predicted impacts on the Pyrenean desman populations (*Galemys pyrenaicus*, Geoffroy). In: Proceedings of the meeting on the Pyrenean desman, Lisbon. 69–77.
- Querejeta, M., Fernández-González, A., Romero, R., & Castresana, J. (2017) Postglacial dispersal patterns and mitochondrial genetic structure of the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) in the northwestern region of the Iberian Peninsula. *Ecology and Evolution*, **7**, 4486–4495.
- Querejeta, M., González-Esteban, J., Gómez, A., Fernández-González, A., Aymerich, P., Gosálbez, J., Escoda, L., Igea, J., & Castresana, J. (2016) Genomic diversity and geographical structure of the Pyrenean desman. *Conservation Genetics*, **17**, 1333–1344.
- Quintana-Seguí, P., Le Moigne, P., Durand, Y., Martin, E., Habets, F., Baillon, M., Canellas, C., Franchisteguy, L., & Morel, S. (2008) Analysis of near-surface atmospheric variables: validation of the SAFRAN analysis over France. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, **47**, 92–107.
- R Core Team (2014) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Raimondi, P., Jurgens, L.J., & Tinker, M.T. (2015) Evaluating potential conservation conflicts between two listed species: sea otters and black abalone. *Ecology*, **96**, 3102–3108.
- Ramakrishnan, U., Coss, R.G., & Pelkey, N.W. (1999) Tiger decline caused by the reduction of large ungulate prey: evidence from a study of leopard diets in southern India. *Biological Conservation*, **89**, 113–120.
- Ratnasingham, S. & Hebert, P.D.N. (2007) BOLD: The Barcode Of Life Data system (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes*, **7**, 355–364.
- Real, R., Barbosa, A.M., Rodríguez, A., García, F.J., Vargas, J.M., Palomo, L.J., & Delibes, M. (2009) Conservation biogeography of ecologically interacting species: the case of the Iberian lynx and the European rabbit. *Diversity and Distributions*, **15**, 390–400.
- Rees, H.C., Maddison, B.C., Middleditch, D.J., Patmore, J.R.M., & Gough, K.C. (2014) The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology. *Journal of Applied Ecology*, **51**, 1450–1459.
- Reid, H.E., Brierley, G.J., & Boothroyd, I.K.G. (2010) Influence of bed heterogeneity and habitat type on macroinvertebrate uptake in peri-urban streams. *International Journal of Sediment Research*, **25**, 203–220.
- Reid, N., Thompson, D., Hayden, B., Marnell, F., & Montgomery, W.I. (2013) Review and quantitative meta-analysis of diet suggests the Eurasian otter (*Lutra lutra*) is likely to be a poor bioindicator. *Ecological Indicators*, **26**, 5–13.
- Ricciardi, A. & Rasmussen, J.B. (1999) Extinction rates of North American freshwater fauna. *Conservation Biology*, **13**, 1220–1222.
- Richard, P.B. (1976) Extension en France du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) et son environnement. *Bulletin d'Ecologie*, **7**, 327–334.

- Richard, P.B. & Micheau, C. (1975) Le carrefour trachéen dans l'adaptation du desman des pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) à la vie dulçaquicole. *Mammalia*, **39**, 467–478.
- Richard, P.B. & Vallette Vialard, A. (1969) Le desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) : premières notes sur sa biologie. *La Terre la Vie*, **116**, 225–245.
- Richardson, D.M., Pyšek, P., Rejmánek, M., Barbour, M.G., Panetta, F.D., & West, C.J. (2000) Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distributions*, **6**, 93–107.
- Rodrigues, A.S.L., Pilgrim, J.D., Lamoreux, J.F., Hoffmann, M., & Brooks, T.M. (2006) The value of the IUCN Red list for conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, **21**, 71–76.
- Rodrigues, D.C., Simões, L., Mullins, J., Lampa, S., Mendes, R.C., Fernandes, C., Rebelo, R., & Santos-Reis, M. (2014) Tracking the expansion of the American mink (*Neovison vison*) range in NW Portugal. *Biological Invasions*, **17**, 1–10.
- Romero, R. (2015) Depredación de visón americano sobre desmán ibérico en Galicia. *Galemys*, **27**, 13–22.
- Roos, A., Loy, A., de Silva, P., Hajkova, P., & Zemanová, B. (2015) *Lutra lutra*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T12419A21935287. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-2.RLTS.T12419A21935287.en>. [Accès 01 juin 2017].
- Rosenfeld, J.S. (2002) Functional redundancy in ecology and conservation. *Oikos*, **98**, 156–162.
- Roussel, J.M. & Bardonnnet, A. (2002) Habitat de la truite commune (*Salmo trutta* L.) pendant la période juvénile en ruisseau : préférences, mouvements, variations journalières et saisonnières. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, **365–366**, 435–454.
- Ruiz-Olmo, J., López-Martín, J.M., & Palazón, S. (2001) The influence of fish abundance on the otter (*Lutra lutra*) populations in Iberian Mediterranean habitats. *Journal of Zoology*, **254**, 325–336.
- Rushton, S.P., Barreto, G.W., Cormack, R.M., Macdonald, D.W., & Fuller, R. (2000) Modelling the effects of mink and habitat fragmentation on the water vole. *Journal of Applied Ecology*, **37**, 475–490.
- Ruys, T. & Fournier, P. (2014) La Loutre d'Europe. In: Ruys, T., Steinmetz, J. & Arthur, C.-P. (coords.) 2014. Atlas des Mammifères sauvages d'Aquitaine – Tome 5 – Les Carnivores. Cistude Nature & LPO Aquitaine. Edition C. Nature. 156p.
- Rychlik, L. (2000) Habitat preferences of four sympatric species of shrews. *Acta Theriologica*, **45**, 173–190.
- Santamarina, J. (1992) Trophic resources of *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) in relation with water quality. In: Proceedings of the meeting on the Pyrenean desman, Lisbon. 27–32.
- Santamarina, J. (1993) Feeding ecology of a vertebrate assemblage inhabiting a stream of NW Spain (Riobo ; Ulla basin). *Hydrobiologia*, **252**, 175–191.
- Santamarina, J. & Guitian, J. (1988) Quelques données sur le régime alimentaire du desman (*Galemys pyrenaicus*) dans le nord-ouest de l'Espagne. *Mammalia*, **52**, 302–307.

- Santulli, G., Palazón, S., Melero, Y., Gosálbez, J., & Lambin, X. (2014) Multi-season occupancy analysis reveals large scale competitive exclusion of the critically endangered European mink by the invasive non-native American mink in Spain. *Biological Conservation*, **176**, 21–29.
- Saunders, D.L., Meeuwig, J.J., & Vincent, A.C.J. (2002) Freshwater protected areas: strategies for conservation. *Conservation Biology*, **16**, 30–41.
- Schinegger, R., Palt, M., Segurado, P., & Schmutz, S. (2016) Untangling the effects of multiple human stressors and their impacts on fish assemblages in European running waters. *Science of The Total Environment*, **573**, 1079–1088.
- Schmeller, D.S., Gruber, B., Budrys, E., Framsted, E., Lengyel, S., & Henle, K. (2008) National responsibilities in European species conservation: a methodological review. *Conservation Biology*, **22**, 593–601.
- Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H., & Negele, R.D. (2004) Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, **68**, 141–150.
- Schweiger, A.K., Schütz, M., Anderwald, P., Schaepman, M.E., Kneubühler, M., Haller, R., & Risch, A.C. (2015) Foraging ecology of three sympatric ungulate species – Behavioural and resource maps indicate differences between chamois, ibex and red deer. *Movement Ecology*, **3**, 1–12.
- Seddon, P.J., Griffiths, C.J., Soorae, P.S., & Armstrong, D.P. (2014) Reversing defaunation: restoring species in a changing world. *Science*, **345**, 406–412.
- Sidorovich, V. & Macdonald, D.W. (2001) Density dynamics and changes in habitat use by the European mink and other native mustelids in connection with the American mink expansion in Belarus. *Netherlands Journal of Zoology*, **51**, 107–126.
- Simberloff, D. (1998) Flagships, umbrellas, and keystones: is single-species management passé in the landscape era? *Biological Conservation*, **83**, 247–257.
- Skerratt, L.F., Berger, L., Speare, R., Cashins, S., McDonald, K.R., Phillott, A.D., Hines, H.B., & Kenyon, N. (2007) Spread of *Chytridiomycosis* has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *EcoHealth*, **4**, 125.
- Smiroldo, G., Balestrieri, A., Remonti, L., & Prigioni, C. (2009) Seasonal and habitat-related variation of otter *Lutra lutra* diet in a Mediterranean river catchment (Italy). *Folia Zoologica*, **58**, 87–97.
- Spencer, C.N., McClelland, B.R., & Stanford, J.A. (1991) Shrimp stocking, salmon collapse, and eagle displacement. *BioScience*, **41**, 14–21.
- Sprague, J.B. & Ramsay, B.A. (1965) Lethal levels of mixed copper–zinc solutions for juvenile salmon. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **22**, 425–432.
- Stanford, J.A. & Ward, J. v. (2001) Revisiting the serial discontinuity concept. *Regulated Rivers: Research & Management*, **17**, 303–310.
- Stendera, S., Adrian, R., Bonada, N., Cañedo-Argüelles, M., Hugueny, B., Januschke, K., Pletterbauer, F., & Hering, D. (2012) Drivers and stressors of freshwater biodiversity patterns across different ecosystems and scales: a review. *Hydrobiologia*, **696**, 1–28.

- Stevens, D.L. & Olson, J.R. (2004) Spatially balanced sampling of natural resources. *Journal of American Statistical Association*, **99**, 262–278.
- Strahler, A.N. (1957) Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Eos, Transactions American Geophysical Union*, **38**, 913–920.
- Strayer, D.L. & Dudgeon, D. (2010) Freshwater biodiversity conservation: recent progress and future challenges. *Journal of the North American Benthological Society*, **29**, 344–358.
- Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M., & Usseglio-Polatera, P. (2000) Invertébrés d'eau douce. Systématique, Biologie, Ecologie. CNRS Editions, Paris. 587p.
- Tansley, A.G. (1935) The use and abuse of vegetational concepts and terms. *Ecology*, **16**, 284–307.
- Thomsen, P.F., Kielgast, J., Iversen, L.L., Wiuf, C., Rasmussen, M., Gilbert, M.T.P., Orlando, L., & Willerslev, E. (2012) Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology*, **21**, 2565–2573.
- Thuiller, W., Georges, D., Engler, R., & Breiner, F. (2016) biomod2: ensemble platform for species distribution modeling. R package v. 3.3-7. <https://CRAN.R-project.org/package=biomod2>.
- Thuiller, W., Lafourcade, B., Engler, R., & Araújo, M.B. (2009) BIOMOD – a platform for ensemble forecasting of species distributions. *Ecography*, **32**, 369–373.
- Tilman, D., Clark, M., Williams, D.R., Kimmel, K., Polasky, S., & Packer, C. (2017) Future threats to biodiversity and pathways to their prevention. *Nature*, **546**, 73–81.
- Timon-David, J. (1960) Un trématode parasite du desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus* Geoffr.). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse*, **95**, 11–17.
- Trutat, E. (1891) Essai sur l'histoire naturelle du desman des Pyrénées. Douladoure-Privat, Toulouse, 107p.
- Tylianakis, J.M., Didham, R.K., Bascompte, J., & Wardle, D.A. (2008) Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, **11**, 1351–1363.
- Usseglio-Polatera, P., Bournaud, M., Richoux, P., & Tachet, H. (2000a) Biomonitoring through biological traits of benthic macroinvertebrates: how to use species trait databases? *Hydrobiologia*, **422**, 153–162.
- Usseglio-Polatera, P., Bournaud, M., Richoux, P., & Tachet, H. (2000b) Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates: relationships and definition of groups with similar traits. *Freshwater Biology*, **43**, 175–205.
- Václavík, T., Kupfer, J.A., & Meentemeyer, R.K. (2012) Accounting for multi-scale spatial autocorrelation improves performance of invasive species distribution modelling (iSDM). *Journal of Biogeography*, **39**, 42–55.
- Valette, L., Piffady, J., Chandesris, A., & Souchon, Y. (2012) SYRAH-CE : description des données et modélisation du risque d'altération de l'hydromorphologie des cours d'eau pour l'état des lieux DCE. 104p.

- Vannote, R.L., Minshall, G.W., Cummins, K.W., Sedell, J.R., & Cushing, C.E. (1980) The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **37**, 130–137.
- Vedia, I., Galicia, D., Baquero, E., Oscoz, J., & Miranda, R. (2017) Environmental factors influencing the distribution and abundance of the introduced signal crayfish in the north of Iberian Peninsula. *Marine and Freshwater Research*, **68**, 900–908.
- Vörösmarty, C.J., McIntyre, P.B., Gessner, M.O., Dudgeon, D., Prusevich, A., Green, P., Glidden, S., Bunn, S.E., Sullivan, C.A., Liermann, C.R., & Davies, P.M. (2010) Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature*, **467**, 555–561.
- Vucetich, J.A., Bruskotter, J.T., & Nelson, M.P. (2015) Evaluating whether nature’s intrinsic value is an axiom of or anathema to conservation. *Conservation Biology*, **29**, 321–332.
- Walker, S.F., Bosch, J., Gomez, V., Garner, T.W.J., Cunningham, A.A., Schmeller, D.S., Ninyerola, M., Henk, D.A., Ginestet, C., Arthur, C.-P., & Fisher, M.C. (2010) Factors driving pathogenicity vs. prevalence of amphibian panzootic *Chytridiomycosis* in Iberia. *Ecology Letters*, **13**, 372–382.
- Wang, J. (2000) Effects of population structures and selection strategies on the purging of inbreeding depression due to deleterious mutations. *Genetic Research*, **76**, 75–86.
- Ward, A.J.W., Webster, M.M., & Hart, P.J.B. (2006) Intraspecific food competition in fishes. *Fish and Fisheries*, **7**, 231–261.
- Ward, J.V. & Stanford, J.A. (1983) The serial discontinuity concept of lotic ecosystems. In: Fontaine T. D. & Bartell S. M., editors. Dynamics of lotic ecosystems. Ann Arbor Science Publisher, Ann Arbor, MI. 347–356.
- Ward, J.V. & Stanford, J.A. (1995) The serial discontinuity concept: extending the model to floodplain rivers. *Regulated Rivers: Research & Management*, **10**, 159–168.
- Weeks, A.R., Sgro, C.M., Young, A.G., Frankham, R., Mitchell, N.J., Miller, K.A., Byrne, M., Coates, D.J., Eldridge, M.D.B., Sunnucks, P., Breed, M.F., James, E.A., & Hoffmann, A.A. (2011) Assessing the benefits and risks of translocations in changing environments: a genetic perspective. *Evolutionary Applications*, **4**, 709–725.
- Williams-Tripp, M., D’Amico, F.J.N., Pagé, C., Bertrand, A., Némoy, M., & Brown, J.A. (2012) Modeling rare species distribution at the edge: the case for the vulnerable endemic Pyrenean desman in France. *The Scientific World Journal*, doi: 10.1100/2012/612965, 6p.
- Wilson, K.A., McBride, M.F., Bode, M., & Possingham, H.P. (2006) Prioritizing global conservation efforts. *Nature*, **440**, 337–340.
- Winder, M. & Schindler, D.E. (2004) Climate change uncouples trophic interactions in an aquatic ecosystem. *Ecology*, **85**, 2100–2106.
- Wise, M.H., Linn, I.J., & Kennedy, C.R. (1981) A comparison of the feeding biology of Mink *Mustela vison* and otter *Lutra lutra*. *Journal of Zoology*, **195**, 181–213.
- Wisz, M.S., Pottier, J., Kissling, W.D., *et al.* (2013) The role of biotic interactions in shaping distributions and realised assemblages of species: implications for species distribution modelling. *Biological Reviews*, **88**, 15–30.

- Wolf, C. & Ripple, W.J. (2016) Prey depletion as a threat to the world's large carnivores. *Open Science*, **3**, 160252.
- Young, H.S., McCauley, D.J., Galetti, M., & Dirzo, R. (2016) Patterns, causes, and consequences of Anthropocene defaunation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **47**, 333–358.
- Young, T.P. (2000) Restoration ecology and conservation biology. *Biological Conservation*, **92**, 73–83.
- Zabala, J., Zuberogoitia, I., & González-Oreja, J.A. (2010) Estimating costs and outcomes of invasive American mink (*Neovison vison*) management in continental areas: a framework for evidence based control and eradication. *Biological Invasions*, **12**, 2999–3012.
- Zweig, M.H. & Campbell, G. (1993) Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clinical Chemistry*, **39**, 561–577.

Résumé

Le desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*) est un petit mammifère semi-aquatique endémique du quart nord-ouest de la Péninsule Ibérique et des Pyrénées. Le déclin avéré de ses populations au sein de son aire de répartition déjà restreinte soumet actuellement l'espèce à un risque élevé d'extinction. Bien que les connaissances sur les exigences écologiques du desman des Pyrénées à différentes échelles spatiales aient été récemment améliorées, les causes de la contraction de sa distribution demeurent encore incomprises. Cette thèse a donc pour objectif d'identifier de nouveaux facteurs qui pourraient jouer un rôle dans la distribution du desman des Pyrénées à l'échelle locale du tronçon de rivière, afin de mieux comprendre les raisons de son déclin. Pour cela, cette étude s'est focalisée sur l'influence sur le desman des Pyrénées de facteurs (i) abiotiques tels que la chimie de l'eau et les perturbations anthropiques dans la rivière, et (ii) biotiques tels que les ressources trophiques, la compétition trophique et spatiale avec un compétiteur potentiel, la crossopé aquatique *Neomys fodiens*, et l'impact de deux prédateurs potentiels, la loutre d'Europe *Lutra lutra* et le vison d'Amérique *Neovison vison*. Les résultats obtenus ont permis de proposer des mesures de gestion pour le desman des Pyrénées qui est une espèce vulnérable et protégée.

Mots-clés : *Galemys pyrenaicus*, interactions biotiques, régime alimentaire, compétition, prédation, sélection d'habitat, traits écologiques

Abstract

The Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) is a small semi-aquatic mammal endemic to the northwest of the Iberian Peninsula and the Pyrenees mountains. The species is subject to an increased risk of extinction due to its observed substantial populations' decline across its whole and already limited range. Knowledge about the ecological requirements of the species was recently improved but the causes of its range contraction are still poorly understood. The aim of this PhD thesis was to identify new factors that could influence the species distribution at the reach scale, in order to better understand its decline. Thus, this study focused on the influence on the Pyrenean desman of (i) abiotic factors such as water chemistry and anthropogenic impacts on the riverbed and (ii) biotic factors such as trophic resources, the trophic and spatial competition with the Eurasian water shrew *Neomys fodiens* and the impact of two potential predators the European otter *Lutra lutra* and the American mink *Neovison vison*. The results enabled to suggest conservation measures for this vulnerable and protected species.

Keywords: *Galemys pyrenaicus*, biotic interactions, diet, competition, predation, habitat selection, ecological traits